

Path



Class 615.05

Book 248

Acc. 170127

Pt 1. V. 9



Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

H. Apolant, Frankfurt a. M., V. Babes, Bukarest, O. Ball, Prag, E. F. Bashford, London, E. v. Behring, Marburg, S. Belfanti, Mailand, A. Besredka, Paris, J. Bordet, Brüssel, A. Breinl, Liverpool, L. Brieger, Berlin, A. Calmette, Lille, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Wien, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Heidelberg, P. Ehrlich, Frankfurt a. M., S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, G. Gaffky, Berlin, M. von Gruber, München, M. Hahn, München, A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Bern, W. Kruse, Königsberg i. Pr., K. Landsteiner, Wien, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, F. Loeffler, Greifswald, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, E. Metschnikoff, Paris, L. Michaelis, Berlin, B. Muir, Glasgow, C. Moreschi, Pavia, P. Th. Müller, Graz, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. Ostertag, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, P. Römer, Marburg, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Berlin, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Berlin.)

R. KRAUS
(Wien.)

H. SACHS
(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH
(Gr.-Lichterfelde-Berlin.)

Neunter Band.

Mit 7 Figuren und 21 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1911

YTERIVIMU STAT.
AND TO
VHABLL

615.05
247
V1
122

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 25. Februar 1911.)

	Seite
Bockhoff, A. , Experimentelle Untersuchungen über das Deutschmannsche Serum. [Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten zu Bern; Direktor: Prof. W. Kolle]	1
Vaughan, Victor V., Cumming, James G., and McGlumphy, Charles B. , The parenteral introduction of Proteins. [From the Hygienic Laboratory, University of Michigan]	16
Mintz, S. , Zur Frage der Vervollkommnung der Wassermannschen Reaktion. [Aus der Akademischen Therapeutischen Klinik von weiland Professor S. S. Botkin an der Militär-Med. Akademie zu St. Petersburg]	29
Ball, Oskar, und Suzuki, S. , Methämolytische Reaktionen. [Aus der Serologischen Abteilung des Hygienischen Instituts der Deutschen Universität Prag]	42
Trommsdorff, R., und Rajehman, L. , Zur Frage der Differenzierung von Enteritidis- und Paratyphus-Bakterien. [Aus dem Royal Institute of Public Health, London (Prof. William R. Smith)].	61
Fukuhara, Y. , Ueber die Wirkung einiger lipoider Stoffe auf die invisiblen Virusarten. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institute in Osaka; Vorstand: Prof. A. Sata]	75
Sellgmann, E. , Versuche zur Deutung der pneumonischen Krisis. II. [Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geh.-Rat Proskauer); Hygienisch-bakteriologische Abteilung (Abt.-Vorsteher: Prof. Sobernheim)]	79
Brockmann, Heinrich , Ueber gruppenspezifische Strukturen des tierischen Blutes. [Aus der Biologischen Abteilung (Prof. v. Dungern) des Institutes für Krebsforschung (Geheimrat Prof. Czerny, Exzellenz)]	87

Heft 2. (Ausgegeben am 29. März 1911.)

Kraus, R. , Experimentelle Beiträge zur Frage der Schutzimpfung bei Poliomyelitis acuta. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf] . . .	117
--	-----

Path. Mikrob. Koch.

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Laub, M. , Ueber die Bildung von komplementbindenden Substanzen für Tuberkulin bei tuberkulösen und gesunden Tieren. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf]	126
von Eisler, M. , und So , Besteht ein Zusammenhang zwischen Agglutinabilität und Bindungsvermögen verschiedener Typhus- und Cholerasträmme? [Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf]	136
Schlemmer , Ein Beitrag zur Biologie des Typhusbacillus. [Aus der Königlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Saarbrücken (Leiter: Dr. Prigge)]	149
Rondoni, Pietro , Beiträge zur hämolytischen Wirkung der Lipide. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	191
Friedberger, E. , und Grüber, A. , „Ueber Anaphylaxie.“ XI. Mitteilung. Das Verhalten von Puls und Atmung bei der Anaphylaxie des Kaninchens. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter.] Mit 7 Figuren im Text	216
Eiger, M. , Die hämolytische und hämagglutinierende Wirkung des Aethyl- und Methylalkohols und des Acetons. Hämolyse und Hämagglutination unter der Einwirkung der Wärme. (Beitrag zur Theorie der Blutkörperchenfixierung.) [Aus dem Physiologischen Institut der Universität in Krakau (Direktor: Dr. N. Cybulski)]	238
Traube, J. , Die Resonanztheorie, eine physikalische Theorie der Immunitätserscheinungen	246
Novotný, J. , und Schick, B. , Ueber passive Uebertragbarkeit der intrakutanen Tuberkulinreaktion (Römer) beim Meerschweinchen. [Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf) in Wien]	275

Heft 3. (Ausgegeben am 29. April 1911.)

Fukuhara, Y. , Ist die Meiostragminreaktion zum anaphylaktischen Studium anwendbar? [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der medizinischen Akademie Osaka; Direktor: Prof. A. Sata]	283
Colombo, Gian Luigi , Ueber die Komplementbindung als Prüfungsmethode der Meningokokken- und Gonokokkenserum und die Spezifität ihrer Ambozeptoren. [Aus dem Serotherapeutischen Institut der klinischen Hochschule zu Mailand; Vorstand: Prof. S. Belfanti]	287

	Seite
Raubitschek, H. , Studien über Hämagglutination. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Czernowitz].	297
Ciuca, M. , Résultats favorables obtenus grâce à l'emploi de la vaccination antianaphylactique par la méthode de Besredka au cours de l'immunisation des chevaux. [Travail du laboratoire du médecine expérimentale de la faculté de médecine de Bucarest] . .	308
Galli-Valerio, B. , Quelques recherches avec les antisérums pour l'albumine du sang et de l'œuf de poule. [Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne]	313
Ritz, H. , Ueber Antikörperbildung und Anaphylaxie bei weißen Mäusen. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. Dr. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich)].	321
Gengou, Oct. , Recherches sur la constitution de l'alexine et son absorption par les précipités spécifiques. [Institut Pasteur de Bruxelles]	344
Sauli, J. O. , Ueber den Nachweis von verschiedenartigem pflanzlichen Eiweiß durch Konglutination. [Aus dem Hygienischen Laboratorium zu Helsingfors (Direktor: Prof. Dr. Taav. Laitinen)]. .	359
Friedberger, E., Goldschmid, E., Szymanowski, Z., Schütze, A., und Nathan, E. , Ueber Anaphylaxie. XII.—XV. Mitteilung. Beiträge zur Frage der Bildung des Anaphylatoxins aus Mikroorganismen. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).] — I. Einleitung. Von E. Friedberger. — II. Ueber die Bildung akut wirkenden Anaphylatoxins aus verschiedenen Mikroorganismenarten. Von E. Friedberger und E. Goldschmid. — III. Weiteres zur Frage der Anaphylatoxinbildung aus Mikroorganismen. Von E. Friedberger und Z. Szymanowski. — IV. Ueber das akut wirkende Anaphylatoxin aus Tuberkelbacillen. Von E. Friedberger und A. Schütze. — V. Ueber Anaphylatoxinbildung im Organismus des Meerschweinchens. Von E. Friedberger und E. Nathan	369

Heft 4. (Ausgegeben am 13. Mai 1911.)

Mc Farland, W. Landram , Observations on the Effect of the Sight of Injection upon the Production of Agglutinin. [From the Danish State Serum Institute (Director: Dr. Th. Madsen).] With 5 Charts	451
Vaughan, Victor C., Cumming, James G., and Wright, John H. , Protein Fever. [From the Hygienic Laboratory, University of Michigan.] With 12 Charts	458

	Seite
Schürmann, Walter, und Sonntag, Erich , Untersuchungen über die auf verschiedene Weise hergestellten Tetanusheilsra mit Hilfe von Immunitätsreaktionen und Tierversuchen. (I. Mitteilung.) [Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der Universität Bern; Direktor: Prof. Dr. Kolle]	490
Krusius, Franz F. , Tuberkulose-Studien. (Beitrag zur experimentellen Augentuberkulose.) [Aus den experimentellen Laboratorien der Königl. Universitäts-Augenkliniken zu Marburg a. L. (Direktor: Prof. Dr. Bach) und der Königl. Charité zu Berlin (Direktor: Geheimrat Prof. Greeff)]	512
Welsh, D. A., und Chapman, H. G. , Beitrag zur Erklärung der Präzipitinreaktion	517
Meyer, Kurt , Untersuchungen über antigene Eigenschaften von Lipoiden. II. Mitteilung. Weitere Versuche über die antigenen Bandwurmlipoide. [Aus dem Serobakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin]	530
Miyashita, S. , Die Immunitätsverhältnisse der Hornhaut. [Aus der Universitäts-Augenklinik in Freiburg i. Br. (Direktor: Geheimrat Axenfeld)]	541
Turró, R., und Gonzalez, P. , Beitrag zum Studium der Anaphylaxie	556
Friedberger, E., und Nathan, E. , Ueber Anaphylaxie. XVI. Mitteilung. Die Anaphylatoxinbildungen aus Eiweiß im Reagenzglas durch normale Sera. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	567
Friedberger, E., und Girgolaß, S. , Ueber Anaphylaxie. XVII. Mitteilung. Ueber die Bedeutung sessiler Rezeptoren für die Anaphylaxie. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	575
Heft 5. (Ausgegeben am 26. Mai 1911.)	
Moro, E., und Tomono, H. , Experimentelle Untersuchungen über anaphylaktisches Gift. [Aus der Münchener Kinderklinik (Vorstand: Prof. Pfaundler)]	583
Rossi, Ottorino , Allergieerscheinungen durch Isoantigene verursacht — Isoneurotoxisches Serum. [Klinik für Nerven- und Geisteskrankheiten am Institute für höhere Studien in Florenz (Leitung: Prof. E. Tanzi)]	652
Braun, H. , Zur Kenntnis des bakteriziden Komplementes. [Aus dem Städtischen hygienischen Institut in Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. M. Neisser). Bakteriologisch-hygienische Abteilung: Dr. H. Braun]	665

	Seite
Graetz, Fr. , Experimentelle Studien über die Beziehungen zwischen Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes. (Zugleich ein Beitrag zur Frage der Eiweißdifferenzierung in den Körperflüssigkeiten der gleichen Tierart.) [Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg; Direktor: Prof. Dr. Dunbar (Abteilung für experimentelle Therapie und Immunitätsforschung)]	677
Schultz, J. H. , Ueber das Vorkommen von „Antituberkulin“ im menschlichen Blutserum. [Aus der Medizinischen Universitäts-poliklinik Breslau (Direktor: Prof. Dr. R. Stern, †)]	709
Kuhn, Ph. , Bemerkung zu der Arbeit „Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden“	713

Heft 6. (Ausgegeben am 10. Juni 1911.)

Noguchi, Hideo , Die quantitative Seite der Serodiagnostik der Syphilis, mit Bemerkungen über den Globulin- und natürlichen Antihammel-Ambozeptorgehalt syphilitischer Sera, sowie über die angebliche Gefahr von Auftreten des Neisser-Sachsschen Phänomens beim Verwenden des antimenschlichen Ambozeptors. [Aus dem Laboratorium des Rockefeller Institute for Medical Research, New York]	715
Gräfenberg, E., und Thies, J. , Ueber die Wirkung des arteigenen fötalen Serums auf normale und trächtige Meerschweinchen und über die Toxizität des Serums im Puerperium. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).] Mit 4 Kurven im Text	749
Ottolenghi, D. , Ueber die Kapsel des Milzbrandbacillus. [Aus dem Institut für Hygiene der Kgl. Universität Siena (Vorstand: Prof. A. Sclavo)]	769
Landsteiner, Karl , Bemerkungen zu der Abhandlung von Traube: Die Resonanztheorie, eine physikalische Theorie der Immunitätserscheinungen	779

Autorenverzeichnis.

- | | |
|----------------------------------|------------------------------------|
| Bail und Suzuki 42. | Laub 126. |
| Bockhoff 1. | Mc Farland 451. |
| Braun 665. | Meyer, K. 530. |
| Brockmann 87. | Mintz 29. |
| Ciuca 308. | Miyashita 541. |
| Colombo 287. | Moro und Tomono 583. |
| Eiger 238. | Noguchi 715. |
| v. Eisler und So 136. | Ottolenghi 769. |
| Friedberger 369. | Raubitschek 297. |
| Friedberger und Girgolaff 575. | Ritz 321. |
| Friedberger und Goldschmid 398. | Rondoni 191. |
| Friedberger und Gröber 216. | Rossi 652. |
| Friedberger und Nathan 444, 567. | Sauli 359. |
| Friedberger und Schütze 431. | Schlemmer 149. |
| Friedberger und Szymanowski 413. | Schultz, J. H. 709. |
| Fukuhara 75, 283. | Schürmann und Sonntag 490. |
| Galli-Valerio 313. | Seligmann 79. |
| Gengou 344. | Traube 246. |
| Gräfenberg und Thies 749. | Trommsdorff und Rajchman 61. |
| Graetz 665. | Turró und Gonzalez 556. |
| Kraus 117. | Vaughan, Cumming u. Mc Glumphy 16. |
| Krusius, F. F. 512. | Vaughan, Cumming u. Wright 458. |
| Kuhn, Ph. 713. | Welsh und Chapman 517. |
| Landsteiner 779. | |

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. IX. No. 1.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten
in Bern; Direktor: Prof. W. Kolle.]

Experimentelle Untersuchungen über das Deutschmannsche Serum.

Von **A. Bockhoff.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. November 1910.)

Die erste Mitteilung über „Ein neues tierisches Heilserum gegen mikrobische Infektionen beim Menschen“ wurde in No. 19 der Münch. med. Wochenschr., 1907, von Deutschmann veröffentlicht. Der Verfasser hob kurz hervor, daß es ihm gelungen sei, durch enterale Einverleibung, d. h. durch Verfütterung steigender Dosen Hefe bei Tieren im Blute die Bildung von Schutz- oder Abwehrstoffen anzuregen. Entnimmt man solchen Tieren das Blut, so gewinnt man „ein Serum, das nach den bisherigen klinischen Erfahrungen berufen erscheint, eine hervorragende Rolle in der Therapie der menschlichen Infektionskrankheiten zu übernehmen“.

Eingehender hat Deutschmann denselben Gegenstand in No. 69 seiner Beiträge zur Augenheilkunde behandelt.

Deutschmann ist ausgegangen von der bekannten Tatsache, daß die enterale Einführung von Hefe beim Menschen unter Umständen den Ablauf infektiöser Prozesse günstig beeinflussen kann, so z. B. bei der Furunkulose. Es hat sich allerdings die Hefezufuhr in denjenigen Dosen, welche zur Erzielung einer Heilwirkung nötig waren, durchaus nicht als harmlos erwiesen. Man beobachtete starke Durchfälle mit rascher Abmagerung; Versuchstiere erlagen sogar der Einverleibung großer Mengen von Hefe. Wegen dieser bedenklichen Nebenwirkungen kam Deutschmann auf den Gedanken, „die Kranken an Stelle der aktiven Beeinflussung mittelst wirksamer lebender Hefezellen, passiv mit deren eventuellen Heilstoffen zu versorgen“. Um wirksames Serum zu gewinnen, wurde den Tieren von Deutschmann die Hefe

per os zugeführt. Es soll nach Deutschmann dann zur Bildung von Schutzstoffen im Blute chemischer Vorgänge bedürfen, welche mit Einführung der Hefe in den Verdauungstraktus der Tiere verknüpft sein sollen.

Die Versuche, welche Deutschmann mit dem Hefeserum anstellte, wurden so angelegt: Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken und Tuberkelbacillen wurden in die vordere Augenkammer von Kaninchen gebracht. Hierbei wurde folgende Methode benutzt: eine kleine Menge der zu impfenden Bakterienkultur wurde zwischen zwei sterile Gelatineplättchen von $1\frac{1}{2}$ —2 mm gebracht und durch einen Lanzenschnitt in die vordere Augenkammer übertragen. Die Tiere wurden vom Tage der Infektion an mit Hefe gefüttert oder sie erhielten Deutschmanns Serum subkutan. Deutschmann behauptete nun, daß der Verlauf des entzündlichen Prozesses am Auge viel milder gewesen sei, als bei den Kontrolltieren, in einigen Fällen sei es sogar gelungen, den bereits entwickelten Infektionsprozeß des Auges durch die Seruminjektionen zum Stillstand zu bringen.

Nach diesen Versuchen ist Deutschmann zur Anwendung des Hefeserums bei Augenerkrankungen des Menschen übergegangen, speziell bei eitrigen Lidrandentzündungen, bei entzündlichen Hornhautprozessen sowohl phlyktänulären, als auch infektiösen Ursprungs, bei Iritis verschiedenster Aetiologie. Das Serum soll auf die angeführten Augenaaffektionen einen überaus günstigen Einfluß ausgeübt haben, was Deutschmann veranlaßte, folgenden Satz niederzuschreiben: „Ich kenne zurzeit kein wirkungsvolleres Hilfs- und Heilmittel für die Augenerkrankungen infektiöser Natur und kann es deshalb nicht dringend genug empfehlen.“ Die Untersuchungen über das Deutschmannsche Serum, die meistens von Seite der Ophthalmologen stammen, haben zu sehr abweichenden Resultaten geführt. Happe¹⁾ hat sehr exakte Versuche mit dem Deutschmann-Serum vorgenommen. Er tadelt an den Experimenten Deutschmanns die Methode, Bakterienkulturen zwischen zwei Gelatineplättchen in die vordere Augenkammer zu über-

1) Bericht über die 35. Versammlung der Ophthalmologischen Gesellschaft, Heidelberg 1908.

tragen. Nach Happe ist es denkbar, daß bei dieser un-taxierbaren Art der Dosierung beim Kontrolltier andere Dosen zur Verwendung kamen, als bei dem mit Serum zu behandelnden. Happe benutzte zur Injektion der Bakterienaufschwemmung eine exakt gearbeitete Glasspritze, welche infolge der feinen Bohrung nur $\frac{1}{10}$ ccm enthielt. In 20 Teilstriche eingeteilt, gestattete die Spritze eine Dosierung von $\frac{1}{200}$ ccm. Es wurden von Happe Staphylokokken und Pneumokokken in Vorderkammer, Hornhaut und Glaskörper injiziert. Ein Teil der Versuchstiere wurde mit Hefe gefüttert, die anderen erhielten Deutschmann-Serum. Bei den Kontrolltieren unterblieb die Fütterung mit Hefe; im übrigen wurden die Tiere unter gleichen Bedingungen gehalten. Die Versuche Happes verliefen negativ. Der Verlauf der künstlich erzeugten Augeninfektion war bei den mit Hefe behandelten und bei den Kontrolltieren der gleiche. Eine Beeinflussung durch Hefefütterung oder durch Seruminjektionen fand nicht statt.

Die Angaben Deutschmanns, daß das Hefeserum die experimentell hervorgerufenen Infektionen am Auge günstig beeinflusse und sogar zum Stillstand bringe, haben sich nach den einwandfreien Untersuchungen von Happe also nicht bestätigt.

v. Hippel¹⁾ ist der Ansicht, daß nicht das Tierexperiment, sondern die klinische Erfahrung in therapeutischen Fragen das Entscheidende sei. Er hält den Nutzen des Deutschmannschen Serums bei *Ulcus serpens*, bei sonstigen infektiösen Hornhautgeschwüren, bei schwerer Iritis plastica nicht syphilitischer oder tuberkulöser Natur als sicher erwiesen. v. Hippel empfiehlt das Deutschmann-Serum bei *Ulcus serpens* auch neben der Querspaltung, denn es beschleunige den Rückgang einer vorhandenen Iritis und die Reinigung des Geschwürs. Unwirksam hat sich das Serum erwiesen bei Glaskörperinfektionen nach perforierender Verletzung, bei skrofulöser Ophthalmie, bei Keratitis parenchymatosa und bei Episkleritis.

v. Michel hat auf der 35. Versammlung der Ophthalmologischen Gesellschaft in Heidelberg die Mitteilung gemacht, daß seine Versuche mit Einspritzungen von Deutschmann-

1) A. v. Graefes Arch. f. Ophthal., 1909, No. 72.

schem Serum bei verschiedenen eitrigen Prozessen des Auges negativ gewesen sind, bzw. nichts geschadet haben.

Wie man die Wirkung des Hefeserums im Tierkörper resp. im menschlichen Organismus sich vorzustellen habe, darüber vermag Deutschmann keinen genauen Aufschluß zu geben. Das Serum sei weder bakterizid noch antitoxisch und durchaus unspezifisch den verschiedenen Krankheits-erregern gegenüber.

In wissenschaftlicher Weise hat M. Neisser die Wirkung des Hefeserums untersucht und ist auf Grund seiner Versuche zu der Anschauung gekommen, daß dem Deutschmann-Serum eine Leukocyten stimulierende Eigenschaft zukomme. Mit diesem Nachweis ist aber, wie Axenfeld auf der Versammlung der Ophthalmologischen Gesellschaft hervorhob, die Heilwirkung für das Auge nicht erwiesen. Auch bei Allgemeininfektionen hat die leukostimulierende Kraft des Deutschmannschen Serums, wie auch aus meinen unten mitgeteilten Versuchen hervorgeht, zur Ausübung einer Schutzwirkung nicht ausgereicht.

Im direkten Widerspruch zu der von Deutschmann in seinen Beiträgen zur Augenheilkunde, No. 69, veröffentlichten Mitteilung, sein Serum nicht als „Allheilmittel“ zu betrachten, steht der Prospekt, mit dem das Serum an das ärztliche Publikum gesandt wird und in welchem das Hefeserum gegen alle nachweislich oder vermutlich infektiösen Erkrankungen des Organismus empfohlen wird. „Das Serum sei wegen seiner Polyvalenz bei allen auf infektiöser Grundlage beruhenden Erkrankungen verwendbar, z. B. gegen Pneumonie, Scharlach, Masern, Typhus, Erysipel, Angina, Furunkulose, septische und pyämische Erkrankungen, besonders puerperalen Ursprungs, gegen alle mit akuten oder chronischen Eiterungen einhergehenden Affektionen, sowohl des Allgemeinorganismus als der speziellen Organe, wie Nase mit Nebenhöhlen, Ohren, Augen.“

Das Serum wird in zwei Modifikationen in den Handel gebracht: Gewöhnliches Deutschmann-Serum und Deutschmann-Serum „E“. Letzteres ist das gereinigte, aus dem Deutschmann-Serum ausgefällte wirksame Prinzip in Wasser einfach und doppelt konzentriert gelöst. Es soll vor dem gewöhn-

lichen Serum den Vorteil haben, frei von den Reizstoffen des Serums und leicht resorbierbar zu sein.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Kolle habe ich mit dem Deutschmann-Serum eine Reihe von Tierversuchen angestellt, um festzustellen, ob die Anwendung von Hefeserum sich experimentell begründen läßt oder nicht. Der Prospekt kündigt an, daß das Serum einen Stoff enthalte, „der den im Kampfe mit den eingedrungenen Mikroorganismen befindlichen, Antistoffe bereitenden Zellen des menschlichen Organismus frische Energie, frisches Nährmaterial zuführt, so daß dieselben siegreich aus dem Kampfe hervorzugehen vermögen“.

Die erste Versuchsreihe wurde angestellt, um die schützende Wirkung des Deutschmannschen Serums zu prüfen gegen 1) Typhus, 2) Cholera, 3) Pneumokokken, 4) Rotlauf, 5) El Tor und 6) Paratyphus.

Prüfung der Schutzwirkung gegen Typhus.

Die Versuchstiere, 300 g schwere Meerschweinchen, erhielten am ersten Tage des Versuches Deutschmann-Serum (1. Serie) und Deutschmann-Serum „E“ (2. Serie) subkutan. Am zweiten Tage wurde 1 Oese 18-stündiger Typhuskultur aufgeschwemmt in 1 ccm Bouillon, intraperitoneal injiziert. Die Kontrolltiere wurden mit Normalserum vorbehandelt.

Tabelle I.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+
0,5	+	0,5	+	0,5	+
1,0	+	1,0	+	1,0	+
2,0	+	2,0	+	2,0	+

Die Versuchstiere erlagen am folgenden Tage der Infektion auch bei der Verabreichung von 1 ccm Deutschmann-Serum, was mich veranlaßte, mit der Dosierung noch höher zu gehen. Bei Injektion von 2 ccm Serum erfolgte der Tod am dritten Tage ebenso wie bei den mit Normalserum behandelten Kontrolltieren. Die Serumeinspritzungen wurden von den Tieren anstandlos vertragen und der tödliche Ausgang kann deshalb nicht auf eine eventuelle schwächende Wirkung des Serums zurückgeführt werden.

Prüfung der Schutzwirkung gegen Cholera.

Vorbehandlung der Tiere (Meerschweinchen von gleichem Gewicht) am ersten Tage mit subkutanen Injektionen von Deutschmann-Serum und Deutschmann-Serum „E“. Am zweiten Tage intraperitoneale Einverleibung von 18-stündiger Cholerakultur in Bouillonaufschwemmung — 1 Oese auf 1 ccm Bouillon. Die Kontrollversuche wurden mit Normalserum angestellt.

Tabelle II.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+
0,5	+	0,5	+	0,5	+
1,0	+	1,0	+	1,0	+

Auch diese Versuche ergeben keine schützende Wirkung, weder des Deutschmann-Serum noch der Modifikation „E“. Die Versuchstiere starben am folgenden Tag, zu gleicher Zeit mit den Kontrolltieren.

Zwecks Prüfung der Wirkung gegen Pneumokokken

wurden Mäuse von gleichem Gewicht und gleichem Wurf mit Deutschmann-Serum und Deutschmann-Serum „E“ durch subkutane Injektionen vorbehandelt. Am zweiten Tage intraperitoneale Injektion von 0,01 ccm einer 24-stündigen Pneumokokkenbouillonkultur. Die Verdünnungen des Serums und der Kultur wurden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen. Kontrollen wie gewöhnlich mit Normalserum.

Tabelle III.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+
0,2	+	0,2	+	0,2	+
0,3	+	0,3	+	0,3	+

Die Versuche mit Pneumokokken förderten ebenfalls ein negatives Resultat zutage. Selbst 0,3 Deutschmann-Serum entfalteten keine Schutzwirkung. Der Tod trat zu gleicher Zeit ein wie bei den Kontrolltieren.

Die Prüfung der Schutzwirkung gegen Rotlauf geschah so, daß Versuchstiere (Mäuse) am ersten Tag Deutschmann-Serum erhielten in beiden Modifikationen subkutan. Am zweiten Tage intraperitoneale Einverleibung von 0,05 ccm einer 24-stündigen Rotlaufbouillonkultur (Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung). Die Kontrolltiere erhielten Normalserum subkutan injiziert.

Tabelle IV.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg	Dosis	Erfolg
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+
0,2	+	0,2	+	0,2	+
0,3	+	0,3	+	0,3	+

Wie aus Tabelle IV ersichtlich, wurde das Deutschmann-Serum auch bei Rotlauf ohne Erfolg angewandt. Die Tiere gingen am folgenden Tag an der Infektion zugrunde, gleichzeitig mit den Kontrolltieren.

Es bedarf keiner Begründung, daß Heilversuche nach den gewonnenen negativen Resultaten als zwecklos unterlassen wurden.

Prüfung der Schutzwirkung gegen El Tor-Vibrionen und Paratyphusbakterien.

Die Untersuchung wurde im Pfeifferschen Versuch vorgenommen, um eine spezifisch bakteriolytische Wirkung des Deutschmann-Serum nachzuweisen. Es wurden Verdünnungen von Deutschmann-Serum und der Modifikation „E“ mit Bouillon hergestellt. In jeder dieser Verdünnungen wurde eine Oese einer 18-stündigen El Tor- resp. Paratyphuskultur gleichmäßig verteilt und Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Die Kontrollen wurden mit Normalserum und der gleichen Kulturmenge behandelt. Nach 20, 30, 40 Minuten und nach 1 Stunde wurde mittelst Kapillaren Peritonealflüssigkeit entnommen und im hängenden Tropfen untersucht. Es zeigte sich nach 20, 30 und 40 Minuten eine geringe Anzahl von Körnchen neben lebhaft beweglichen Bakterien.

Auch nach einer Stunde wurde nur eine mäßige Auflösung der Bakterien konstatiert, niemals aber mehr als bei den

Kontrollproben. Die Tiere erlagen der Infektion schon nach 24 Stunden, in gleicher Zeit wie die Kontrolltiere.

Pfeifferscher Versuch. El Tor.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosen	Erfolg	Dosen	Erfolg	Dosen	Erfolg
0,001	+	0,001	+	0,001	+
0,005	+	0,005	+	0,005	+
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,02	+	0,02	+	0,02	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+

Pfeifferscher Versuch. Paratyphus.

Deutschmann-Serum		Deutschmann-Serum „E“		Normalserum	
Dosen	Erfolg	Dosen	Erfolg	Dosen	Erfolg
0,001	+	0,001	+	0,001	+
0,005	+	0,005	+	0,005	+
0,01	+	0,01	+	0,01	+
0,02	+	0,02	+	0,02	+
0,05	+	0,05	+	0,05	+
0,1	+	0,1	+	0,1	+

Neben den Tierversuchen wurden mit dem Serum Versuche in vitro angestellt. Es wurde das Serum auf seine eventuellen Agglutinationswirkungen geprüft und die gewonnenen Titer miteinander verglichen. Als Kontrollen dienten hier die Immunsera der angewandten Bakterien und Pferde-Normalserum.

Agglutinationsprobe mit Typhusbakterien.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Typhusserum	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	+	—	+	+
1:100	+	—	+	+
1:200	+	—	+	+
1:500	—	—	+	—
1:1000	—	—	+	—
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	+	—
1:10 000	—	—	+	—

Agglutinationsprobe mit Cholera-vibrionen.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Cholera-serum	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	+	—	+	+
1:100	+	—	+	+
1:200	+	—	+	—
1:500	—	—	+	—
1:1000	—	—	+	—
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	+	—
1:10 000	—	—	—	—

Agglutinationsprobe mit Rotlaufbacillen.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Rotlaufserum	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	+	—	+	+
1:100	—	—	+	+
1:200	—	—	+	+
1:500	—	—	+	+
1:1000	—	—	+	+
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	—	—
1:10 000	—	—	—	—

Agglutinationsversuch mit El Tor.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	El Tor-Serum	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	+	—	+	+
1:100	+	—	+	+
1:200	+	—	+	—
1:500	—	—	+	—
1:1000	—	—	+	—
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	—	—
1:10 000	—	—	—	—

Agglutinationsversuch mit Paratyphusbacillen.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Paratyphus	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	+	—	+	+
1:100	+	—	+	+
1:200	+	—	+	—
1:500	—	—	+	—
1:1000	—	—	+	—
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	+	—
1:10 000	—	—	—	—

Agglutinationsversuch mit Meningokokken.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Meningokokk-Serum	Normalserum
1:10	+	—	+	+
1:20	+	—	+	+
1:50	—	—	+	+
1:100	—	—	+	—
1:200	—	—	+	—
1:500	—	—	+	—
1:1000	—	—	+	—
1:2000	—	—	+	—
1:5000	—	—	+	—
1:10 000	—	—	—	—

Agglutinationsversuch mit Staphylococcus aureus.

Verdünnung	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Normalserum
1:10	+	—	+
1:20	+	—	—
1:50	—	—	—
1:100	—	—	—
1:200	—	—	—
1:500	—	—	—
1:1000	—	—	—
1:2000	—	—	—
1:5000	—	—	—

Agglutinationsversuch mit *Staphylococcus albus*.

Verdünnungen	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Normalserum
1:10	+	—	+
1:20	+	—	+
1:50	+	—	—
1:100	—	—	—
1:200	—	—	—
1:500	—	—	—
1:1000	—	—	—
1:2000	—	—	—
1:5000	—	—	—

Vergleichende Tabelle der gewonnenen Agglutinationstiter.

Serum	Cholera	El Tor	Typhus	Paratyphus	Rotlauf	Meningokokken	Staphylokokken (albus)	Staphylokokken (aureus)
Immunserum	1:5000	1:2000	1:1000	1:5000	1:2000	1:2000	—	—
Deutschm.-S.	1:200	1:200	1:200	1:200	1:50	1:20	1:20	1:20
Deutschm.-S. E	0	0	0	0	0	0	0	0
Normalserum	1:100	1:100	1:100	1:100	1:50	1:20	1:20	1:10

Bei der Vergleichung der Agglutinationstiter ergab sich ein geringer Unterschied zugunsten des Deutschmann-Serums. Die Modifikation „E“ erwies sich als völlig wirkungslos, enthielt sogar keine Normalagglutinine, da diese wahrscheinlich bei der besonderen Art der Herstellung dieses Serums vernichtet worden waren.

Weiterhin wurde das Deutschmann-Serum auf seine komplementbindenden Eigenschaften geprüft. Als Antigen wurden Bakterienkulturen benutzt. Die Versuche wurden mit Pneumokokken, Meningokokken, Streptokokken und Hefe angestellt. Als Kontrollen dienten Immunserum und Normalserum.

Tabelle I.

Serum in fallenden Dosen + Pneumokokkenaufschwemmung + 0,05 ccm Komplement. Die Mischung 1 Stunde bei 37°. Hierauf Zusatz des hämolytischen Systems; das Ganze $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37°.

	Pneumokokken-serum	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Normalserum
0,5	Hemmung	Hämolyse	Hemmung	Hämolyse
0,25	„	„	„	„
0,075	„	„	Hämolyse	„
0,05	geringe Hemmg.	„	„	„
0,025	Hämolyse	„	„	„
0,01	„	„	„	„

Tabelle II.

Versuchsanordnung wie oben.

Streptokokken als Antigen.

	Streptokokken- serum	Deutschmann- Serum	Deutschmann- Serum „E“	Normalserum
0,5	Hemmung	Hämolyse	Hemmung	Hämolyse
0,25	„	„	teilweise Hemmg.	„
0,1	„	„	Hämolyse	„
0,075	geringe Hemmg.	„	„	„
0,05	Hämolyse	„	„	„
0,025	„	„	„	„
0,01	„	„	„	„

Tabelle III.

Versuchsanordnung wie oben.

Meningokokken als Antigen.

	Meningokokken- serum	Deutschmann- Serum	Deutschmann- Serum „E“	Normalserum
0,5	Hemmung	Hämolyse	Hemmung	Hämolyse
0,25	„	„	„	„
0,1	„	„	Hämolyse	„
0,075	„	„	„	„
0,05	„	„	„	„
0,025	„	„	„	„
0,01	„	„	„	„

Tabelle IV.

Versuchsanordnung wie oben.

Hefe als Antigen.

	Deutschmann- Serum	Deutschmann- Serum „E“	Normalserum
Hämolyse 0,5	Hemmung	Hemmung	Hämolyse
„ 0,25	„	„	„
„ 0,1	„	Hämolyse	„
„ 0,075	„	„	„
„ 0,05	„	„	„
„ 0,025	„	„	„
„ 0,01	„	„	„

Wie aus den Komplementbindungsversuchen hervorgeht, besitzt das Deutschmann-Serum „E“ gar keine komplement-verankernden Stoffe. Die Kontrolle, ob das Deutschmann-Serum „E“ in den größten angewandten Dosen nicht komplementbindend sei, ergab, daß 0,5 und 0,25 Deutschmann-Serum „E“ auch ohne Antigen Komplement bindet. (Größte Dosis Serum + hämolytisches System + Komplement.)

Zum Schlusse wurde das Deutschmann-Serum auf seinen Gehalt an bakteriotropen Substanzen geprüft.

Nach der Methode von Neufeld wurden fallende Serumverdünnungen hergestellt, welche mit Bakterienemulsion und Meerschweinchenleukocyten gemischt wurden. Die Mischungen wurde geschüttelt und für eine Stunde in den Brutschrank gebracht. Hierauf Anfertigung der Präparate und Färbung mit verdünnter Methylenblaulösung. Die Versuche wurden mit Paratyphus, El Tor und Meningokokken angestellt.

Tabelle I.
Versuch mit Paratyphus.

	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Normalserum
0,01	gute Phagocytose	mäßige Phagocytose	gute Phagocytose
0,005	„ „	„ „	„ „
0,002	„ „	geringe „	geringe „
0,001	geringe „	„ „	„ „
0,0005	„ „	unbedeutende „	„ „
0,0002	schlechte „	„ „	keine „

Tabelle II.
Versuch mit El Tor.

	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	El Tor-Serum	Normalserum
0,01	geringe Phagoc.	geringe Phagoc.	gute Phagocyt.	geringe Phagoc.
0,005	„ „	„ „	„ „	„ „
0,002	„ „	„ „	geringe „	„ „
0,001	„ „	„ „	„ „	unbed. „
0,0005	keine „	keine „	keine „	keine „
0,0002	„ „	„ „	„ „	„ „

Tabelle III.

Versuch mit Meningokokken.

	Deutschmann-Serum	Deutschmann-Serum „E“	Meningokokken-serum	Normalserum
0,01	mäßige Phagoc.	mäßige Phagoc.	schr gute Phagoc.	gute Phagocyt.
0,005	„ „	„ „	„ „	„ „
0,002	geringe „	geringe „	gute „	„ „
0,001	„ „	„ „	„ „	geringe „
0,0005	schlechte „	keine „	„ „	schlechte „
0,0002	„ „	„ „	„ „	„ „

Wie aus den Tabellen ersichtlich, fiel auch dieser Versuch negativ aus. Der Gehalt an Bakteriotropinen konnte weder beim gewöhnlichen Deutschmann-Serum noch beim Deutschmann-Serum „E“ nachgewiesen werden.

Aus diesen experimentellen Ergebnissen geht hervor, daß das Deutschmannsche Serum keinerlei Wirkung entfaltet, welche nicht auch das Normalserum besäße. Es haben sich die Angaben des Erfinders bezüglich dieses polyvalenten, nicht spezifischen Serums, wie schon von Happe in betreff der Augeninfektionen hervorgehoben wurde, nicht durch Experimente bestätigt, und es fehlt also zur allgemeinen Anwendung dieses „Heilserums“, die theoretische und wissenschaftliche Berechtigung. Von Deutschmann und von Hippel ist behauptet worden, daß in therapeutischen Fragen nicht das Tierexperiment, sondern die klinische Erfahrung die Entscheidung bringe. Daß aber die klinische Beobachtung allein irreführen kann, beweisen die äußerst abweichenden Resultate, zu denen die verschiedenen Kliniker bei der Anwendung des Deutschmannschen Serums gelangt sind.

Wir müssen nach den negativen Experimentalergebnissen mit Axenfeld fordern, daß „das hohe Niveau, welches die Immunitätsforschung hinsichtlich ihrer experimentellen Begründung eingenommen hat, nicht verlassen wird“.

Zusammenfassung.

1) Das Deutschmannsche Serum entfaltet in seinen beiden Modifikationen im Tierversuch (bei Infektion mit

Typhus, Cholera, El Tor, Pneumokokken, Paratyphus und Rotlauf keine stärkere schützende Wirkung als normales Serum derselben Tierart.

2) Die Austitrierung des Deutschmannschen Serums mittelst der Agglutination gegenüber den verschiedenen Bakterienarten ergab folgende Titer: gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen, El Tor- und Choleravibrionen 1:200; gegenüber Rotlaufbacillen und Staphylococcus albus 1:50; gegenüber Meningococcus und Staphylococcus aureus 1:20. Das Normalserum wirkte agglutinierend auf Typhus-, Cholera-El Tor- und Paratyphuskulturen in Verdünnungen von 1:100; auf Rotlaufkultur in Verdünnung von 1:50; auf Staphylococcus albus und Meningococcus in Verdünnung von 1:20 und auf Staphylococcus aureus in Verdünnung von 1:10. Die Modifikation „E“ erwies sich im Agglutinationsversuch als völlig wirkungslos, selbst im konzentrierten Zustande. Durch die Behandlung sind also in dieser Modifikation die sämtlichen Normalagglutinine zerstört worden.

3) Die mit dem Deutschmannschen Serum angestellten Komplementbindungsversuche ergaben, daß das Deutschmannsche Serum in seinen beiden Modifikationen nicht imstande ist, stärker Komplement zu fixieren als Normalserum, wie Versuche mit Pneumokokken, Streptokokken, Meningokokken und Hefe als Antigen ergaben.

4) Das Deutschmannsche Serum enthält nicht mehr Bakteriotropine als normales Serum.

Nachdruck verboten.

[From the Hygienic Laboratory, University of Michigan.]

The parenteral introduction of Proteins.

By Victor C. Vaughan, James G. Cumming and
Charles B. McGlumphy.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Dezember 1910.)

For a long time it was thought that the proteins of our food undergo but slight modification before absorption through the walls of the alimentary canal. The studies of Beaumont laid the foundation of the scientific investigation of proteolytic digestion, and soon it was shown that the digestive juices convert proteins into peptons.

After experiment had demonstrated that pepton is formed in alimentary digestion and had shown the comparatively ready diffusibility of the digestive products, several questions arose. Among these may be mentioned the following: (1) Is all the protein converted into pepton in the alimentary canal, or is part of it absorbed in unaltered form? (2) What is the fate of pepton after absorption?

Brücke (Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien, Bd. 37, 1859; *ibid.*, Bd. 59) whose studies on pepsin and its action made him one of authority in this matter, held that only a part of the protein is converted into pepton in alimentary digestion, and that much of the soluble protein of the food is absorbed unchanged. Furthermore, he taught that the fate of the two after absorption is different. The pepton, he taught, is rapidly oxidized and serves as a source of energy, but is not utilizable in the building of tissue, the latter function devolving solely on the protein absorbed in unaltered form. Brücke's arguments in support of his theory may be briefly stated as follows:

a) At best the gastric juice forms pepton slowly, and the time during which the food is detained in the stomach does not permit of its complete peptonization. It will be understood that the action of the pancreatic juice was not known, nor had erepsin been discovered when Brücke wrote. b) In an animal killed while in digestion, Brücke found forty-eight hours after death coagulable protein not only in the chyle vessels in the intestinal walls, but in the intestinal villi, and he concluded that this could come only from the absorption of unaltered protein. c) Brücke argued that the absorption of unbroken protein is quite as possible as that of fat,

since the molecule of the former could not be larger than that of the latter. This argument assumed that the absorption of both proteins and fats is simply a process of filtration.

Diakonow (Hoppe-Seylers med. chem. Untersuchungen, 1867) supported the theory of Brücke because pepton cannot be found in large amount in the blood. Voit and Bauer (Zeitschr. f. Biol., Bd. 5, 1869) and Eichhorst (Pflügers Arch., Bd. 4, 1871, p. 570) concluded that unaltered protein is absorbed because they found that the introduction of protein in the large intestine is followed by increased elimination of urea. This certainly is proof that the protein is absorbed, but not proof that it is absorbed unaltered. Eichhorst showed that a glycerin extract of the mucous membrane of the large intestine had no digestive action, but he did not show that the large intestine did not contain any pancreatic juice and this might have digested the proteins. Fick (Pflügers Arch., Bd. 5, 1872, p. 40) took an aqueous solution of pepton and precipitated it with alcohol, then dissolved the precipitate in water and injected it into nephrotomized dogs. He found that the blood after this treatment yielded a larger amount of nitrogenous material soluble in alcohol and precipitable with mercuric nitrate, and he concluded that pepton introduced into the blood is speedily converted into urea without being employed in tissue building, while unaltered protein is used in tissue metabolism. Fick's conclusions support Brücke's hypothesis. Maly (Pflügers Arch., Bd. 9, p. 605) pointed out a possible error in Fick's work, showing that while pepton may be precipitated from aqueous solution by alcohol, it is not wholly insoluble in this menstruum, and the increase of alcohol soluble nitrogen in the blood might be due to pepton and not to the conversion of this into urea.

Evidently if Brücke's theory were true, the animal body could not maintain its health and vigor if fed exclusively on pepton, which according to the theory, is not utilizable by the animal in the repair of tissue. Plösz (Pflügers Arch., Bd. 9, p. 325) fed animals exclusively, so far as their nitrogenous food is concerned, on peptons and found that they did not lose weight or suffer in any detectable way. Maly (l. c.) confirmed this finding which has been repeated many times and under diverse conditions, so that now Brücke's contention that the absorption of unaltered protein is essential to health has no support.

The second question, what is the fate of the absorbed pepton, became for a time one of much importance. Plösz and Gyergyai (Pflügers Arch., Bd. 10, 1875, p. 536) injected from 200 to 300 c.c. of a 10 per cent solution of pepton into the stomachs of fasting dogs, and after periods of from one to four hours searched for the pepton in the blood and tissues of various organs. The method of recognizing pepton consisted in the application of the biuret and Millon tests to the filtrate after the removal of all of the coagulable protein by acid and heat. They found the largest amount of pepton in the mesenteric veins and in extracts of the mesentery, much less in the liver and only traces in hepatic and carotid blood. Next,

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

2

they injected dogs and cats intravenously with a 10 per cent solution of pepton, employing from 100 to 200 c.c., and introducing it at the rate of from 2 to 3 c.c. per minute. A dog received 200 c.c. during one and one half hours, and after three hours the carotid blood showed only a small amount of pepton which had wholly disappeared after four hours. When larger amounts were used a small quantity appeared in the urine, but the proportion eliminated in this way was only a small part of that injected. They also transfused certain organs and tissues with blood to which pepton had been added, and found that the pepton soon disappeared from the blood. These investigators concluded that pepton is soon so changed in the organism that it can no longer be detected by the method which they employed. Whether it is changed directly into albumin or is so altered by cell activity by combining with other substances, they could not decide. They were of the opinion that the capability of effecting this change is not confined to any one organ or tissue, but that it may occur in the liver, muscle or other tissue. They were quite convinced, however, that the conversion is not essentially one of oxidation, since the amount of oxygen in the blood did not affect it.

Schmidt-Mühlheim (Du Bois Reymonds Arch. f. Phys., 1880) injected from five to ten grams of pepton into the jugular vein of dogs and found that the pepton disappeared from the blood within 16 minutes after completing the injection. He also concluded that the injected pepton undergoes a rapid conversion into albumin and globulin.

According to Hofmeister (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 5, 1881, p. 127) pepton when injected into the blood does quickly disappear from that fluid, but is not converted into albumin or globulin. It quickly diffuses through all the tissues undergoing a dilution which is determined by the total fluid in the body, and which is so great that its detection by chemical tests is impossible. Diffusion into the brain results in certain characteristic symptoms, the most marked of which are muscular weakness and somnolence. These symptoms may be observed in a 10 kg dog after the subcutaneous injection of from 0,2 to 0,4 g of pepton, but the fatal dose is large, as high as 1 g per kilo. Injections of pepton lead to lowered blood pressure and much of the pepton, according to Hofmeister's finding, may be deposited in the tissue where it may be detected at a time when there is none in the blood. He found one-seventh of the pepton injected in the kidneys, which organs were equivalent to only 1/192 of the body weight, and concludes that the pepton injected into the circulation has a special predilection for renal tissue. When the amount of pepton injected is large, Hofmeister recovered as much as 84 per cent of it from the urine.

Neumeister (Zeitschr. f. Biol., Bd. 27, 1891, p. 309) reviewed the literature of this subject up to that time, and made some additional contributions. He stated that some proteins are absorbed unchanged, that others need only to be dissolved, and that still others must be digested. He stated that the compound proteins, as casein and hemoglobin, when injected into the blood, act like foreign bodies, and are eliminated in the urine, while

the simple and denatured proteins, when injected into the blood, do not cause albuminuria. Stockvis did not observe albuminuria after injecting dog, rabbit or frog serum into dogs or rabbits, but did when he used egg-albumin. Lehmann invariably induced albuminuria by injecting egg-albumin intravenously in dogs, but failed to do so when he employed sodium albuminate, or syntonin, prepared from frogs' muscle, myosin or fibrin. Ponfick found that dogs bear astounding amounts of lamb serum, free from corpuscles, when the injections are made slowly, and under gentle pressure. "The amount of urine was not appreciably increased, although the color became darker, owing to the greater concentration, while not a trace of albumin could be detected." There is no statement concerning the effect upon the elimination of nitrogen; Forster injected large amounts of horse serum into dogs, while the urine remained free from albumin. Neumeister injected into the jugular veins of dogs without inducing albuminuria, the following proteins in large amounts, syntonin and albuminate from egg-albumin, syntonin from ox flesh, crystalline phytovitellin from pumpkin seed and pure serum albumin from the ox.

According to Neumeister, Salviolo was the first to show that pepton is transformed by the living intestinal wall, but this investigator only demonstrated that pepton disappears when placed in an intestinal loop and cannot be found in either the blood from the part, or within the loop. The nature of the transformation was not determined. The fact that pepton is synthesized into albumin seems to have been first suggested by two women, students of Kronecker, Nadine Popoff and Julia Brinck. It was thought by these investigators that this synthesis is accomplished partly by the epithelial cells of the intestinal wall, and partly by a microorganism to which Julia Brinck gave the name *Micrococcus restituens* (*Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 7, 1889, p. 427, 453) Hofmeister (*Zeitschr. f. phys. Chemie*, Bd. 5, 1881, p. 151) suggested that the leucocytes in the intestinal wall might combine with pepton much as hemoglobin does with oxygen in the lungs, and Heidenhain (*Pflügers Arch.*, Bd. 53, 1888) thought that the leucocytes might play a part in the absorption of peptons, but that it could not be as suggested by Hofmeister (l. c.); otherwise the leucocytes in the circulating blood would combine with pepton injected intravenously.

As early as 1874 Tschiriew (*Arb. a. d. phys. Inst. zu Leipzig*) working under Ludwig's direction, found that dog serum transfused into another dog increased the elimination of urea much more slowly than when given to the dog by mouth, but Forster (*Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 2, 1895, p. 496) found that horse serum affects the urea output in dogs equally, both in amount and time, whether given intravenously or by mouth.

Dehne and Hamburger (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1904, No. 29) state that white mice do not produce a precipitin when treated with horse serum, and Celler and Hamburger (*Ibid.*, Bd. 18, 1905, p. 271) find that white rats fail to respond to ox serum by elaborating a precipitin.

Uhlenhuth (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1900, p. 734) and Michaelis and Oppenheimer (*Arch. f. Phys., phys. Abt., Suppl.-Band*, p. 336)

found that when rabbits are repeatedly fed through a tube with egg-white or serum, they develop precipitins. Celler and Hamburger say that this may be due, (1) to injury of the esophagus or stomach by the tube, and the introduction of the protein in this way. (2) To the failure of the secretion on account of the unnatural method of feeding. (3) To the direct introduction of the protein into the intestine where, according to Oppenheimer and Rosenberg (Hofmeisters Beiträge, Bd. 5, 1903, p. 412) serum proteins resist tryptic digestion.

Celler and Hamburger found that in forced or tube feeding the protein may be absorbed unchanged, on account of the lack of digestive juice.

Chiray (These de Paris, 1906; Jahresber. d. Tierchemie, Bd. 36, 1907, p. 805) has studied the effects of heterologous proteins. The intravenous injection of a very small amount of egg-white in rabbits causes after from 10 to 30 minutes, a transitory albuminuria with increase in the volume of urine, but without glycosuria, hemoglobinuria or hematuria. The intravenous, subcutaneous or intraperitoneal injection in increasing doses, even with long intervals, causes in rabbits a gradual decrease in weight. When the egg-white is injected into the portal vein the albuminuria appears much later than when the injection is made into the general circulation. Subcutaneous injections induce an albuminuria which appears later, is less marked, and persists longer than when the injection is made intravenously. The intramuscular injection of 2 c.c. of egg-white in man was without effect, but when tried upon one who had renal deficiency, albumin appeared in the urine from 14 to 24 hours later. In cases of marked albuminuria injections of egg-white did not materially affect the excretion of albumin. In rabbits, dogs and men the introduction of large amounts of egg-white into the stomach was followed by albuminuria, though this did not invariably occur in the men. The injection of egg-white into the rectum of rabbits was followed by an albuminuria which appeared later and was more persistent than when it was given by the stomach. Egg-white administered by rectum to man, especially to convalescents from infectious diseases, was followed by an albuminuria, but this did not occur when the albumin was mixed with an active trypsin before injection. In some, not in all, the administration of pepton by rectum was followed by albuminuria as well as peptonuria. Injections of egg-white in rabbits decrease the proteins of the blood, as shown by the refractometer. It appears that not only a part of the foreign protein, but also a part of the blood proteins passes into the muscles. All of the injected protein, probably not the greater part, does not pass through the kidney, at least not within the time of observation, but much is withdrawn from the blood and held in the tissues. Repeated injections of egg-white lead to marked structural changes in the kidneys. Alimentary albuminuria is not due to poisons resulting from the splitting of the protein, but the absorption and elimination of the unbroken protein which is a foreign and poisonous body. When a milk diet is presented, casein may in some instances be found in the urine. The prohibition of raw eggs in albuminuria is justified.

The statement that the injection of a foreign protein leads to the exudation of the normal proteins of the blood, as made by Chiray, is interesting and if confirmed it may be found to be of marked importance. It has been practically confirmed by Wolf (*Arch. int. Phys.*, Vol. 3, p. 343) who found that the proteins of the plasma were diminished by the injection of Witte's pepton in 11 out of 14 tests.

Oppenheimer (*Hofmeisters Beiträge*, Bd. 4, p. 263) estimated that as much as 49 per cent of egg-white injected intravenously or intra-abdominally in rabbits is eliminated in the urine. However, he does not claim any great exactness for this work, because he is aware of the fact that all the protein in the urine does not come from that injected, and that a part of it is serum albumin. It is probable that the latter makes up the larger part.

Castaigne and Chiray (*Comp. rend. Soc. Biol.*, T. 60, 1906, p. 218) hold that heterologous proteins injected subcutaneously are absorbed and eliminated in the urine unchanged. They act as poisons, causing destruction of the proteins of the blood and increased elimination of nitrogen, urea and sulphur. The decrease in the normal proteins of the blood may be as high as from 1 to 3 per cent. This is not due to hydremia as shown by determination of total solids. Repeated injections of heterologous proteins, either subcutaneously or intravenously, lead to cachexia.

Nobecourt (*Compt. rend. Soc. Biol.*, Vol. 46, 1909, p. 850) introduced egg-white into the alimentary canal of rabbits. He used 46 animals, 31 adults, weighing from 1650 to 2270 g and 15 young, weighing from 320 to 1030 g. These received by the stomach or rectum from 5 to 13 c.c. of egg-white, at each injection at intervals of one, three, seven, ten and fifteen days. The mortality was as follows:

Intervals	Stomach	Per cent of Mortality		
		In Adults Rectum	In Young Stomach	Rectum
Every day	0	0	100	100
Every three days	100	0	100	100
Every seven days	50	50	33	33
Every ten days	50	0	33	33
Every fifteen days	0	50	33	33

From the above test, 24 animals, 20 adults and 4 young, survived. After a rest of from 20 to 44 days each of these received rectal injections, every seven days, of from 3.3 to 9.6 c.c. of egg-white.

Interval in first series	Per cent of Mortality	
	Method of Administration in first series.	
	Stomach	Rectum
Every day	66	0
Every three days	66	0
Every seven days	{ 50 adults 50 young	{ 75 adults 100 young
Every ten days	0	50
Every fifteen days	0	0

From the second ordeal, 13 animals, 12 adults and 1 young, survived. After a rest of from 17 to 40 days these received every seven days rectal injections of from 5.2 to 8.9 c.c. of egg-white, with the following results:

Intervals in first series	Per cent of Mortality	
	Method of Administration in first series.	
	Stomach	Rectum
Every day	0	50
Every three days	0	100
Every seven days	50 adults	100
	100 young	
Every ten days	100	100
Every fifteen days	100	0

From this test, four animals, all adults, survived. After a rest of from 24 to 45 days these received every seven days from 4.6 to 7.5 c.c. of egg-white. Three died.

It appears from the experiments of Uhlenhuth and of Nobecourt that egg-white is absorbed, at least in some instances, unchanged from the stomach and intestines of rabbits. When tubes are used for the introduction of the egg-white it is possible that a small amount of the material may be introduced through some slight wound or abrasion in the mucous membrane. Sensitization might be induced in this way, but it is hardly conceivable that subsequently enough would be introduced in this way to kill the animal. It seems therefore that we must conclude that in forced feeding, at least, unbroken egg-white may be absorbed from the alimentary canal of the rabbit. It must be understood, however, that apart from any injury to the mucous membrane, the conditions of forced feeding are not exactly the same as those in natural feeding. Celler and Hamburger have called attention to this point. By continued tube feeding of rabbits with the serum and blood of the ox, in only one instance did they obtain a precipitin for the serum, and an hemolysin for the corpuscles, while they found that rabbits after fasting took the serum and blood willingly when mixed with milk, and in none of these was there any evidence of absorption without digestion. They admit the possibility of wounding the mucous membrane with the tube, or of carrying the material through the tube into the intestine, but they are inclined to the opinion that in the unnatural tube feeding the digestive secretions are not poured out so freely or are less effective than in natural feeding. This is in accord with the findings of Pawlow, who holds that desire for food is an important factor in securing thorough digestion.

With this brief and imperfect review of the literature of the subject, we turn to our own experimental work. Our method is to inject egg-white into the animals and test for its presence in the blood and extracts of tissue by sensitizing guinea-pigs, having first demonstrated that the blood of the rabbit and extracts from its tissue do not sensitize guinea-pigs

to egg-white. The details of the method will be developed in the report of the experiments. Our findings are as follows:

(1) Egg-white injected into the stomach of a rabbit may be in part absorbed unchanged.

Dec. 7, 1909 at 9.30 A. M., 50 c. c. of egg-white was introduced through a tube into the stomach of a rabbit that had been kept without food for two days. Neither at the time nor subsequently did this have any recognizable effect upon the rabbit. 3 c. c. of blood was drawn from the heart of this rabbit at 10.30 and 11.30 A.M., and at 12.30, 2.30 and 4.30 P.M., and each of these portions of blood was injected intraperitoneally in a fresh guinea-pig. Jan. 3, 1910, each of these pigs received intraabdominally 5 c. c. of a dilution of egg-white with an equal volume of physiologic salt solution.

Only one of these pigs developed symptoms of sensitization, and this one received blood drawn from the rabbits heart three hours after the introduction of the egg-white into the stomach. Neither the blood drawn earlier nor that drawn later sensitized guinea-pigs.

Jan. 8, 1910, at 8 A.M., 50 c. c. of a dilution of egg-white with physiological salt solution (1:1) was introduced through a tube into the stomach of a rabbit which had not been kept without food.

Hourly $2\frac{1}{2}$ c. c. of blood was drawn from the heart of this animal, and injected intraabdominally into guinea-pigs.

Jan. 22, 1910, these pigs were treated each with 5 c. c. of the egg-white dilution intraabdominally. The first, second and third hour pigs showed no sensitization; the fourth and fifth hour ones were sensitized, while the sixth, seventh and eighth were not.

That absorption from the stomach of the fed animal should have been more tardy than from the fasting one is easily understood.

(2) Egg-white injected into the rectum of a rabbit may be, in part at least, absorbed unchanged.

Jan. 8, 1910, at 8 A.M., 50 c. c. of egg-white diluted with physiological salt solution (1:1) was introduced through a tube into the rectum of a rabbit. Hourly, $2\frac{1}{2}$ c. c. of blood was drawn from the heart and injected intraabdominally into guinea-pigs.

Jan. 22, 1910, these pigs were tested and all from the first to the seventh hour were found to be sensitized to egg-white.

It appears from this that egg-white may be absorbed from the rectum of a rabbit without being so far altered as to

destroy its specific sensitizing properties and that absorption into the blood begins within the first hour and continues for at least seven hours.

(3) Egg-white injected into the peritoneal cavity of a rabbit may be absorbed unchanged.

Dec. 7, 1909, at 9.30 A.M. a rabbit received intraperitoneally 50 c. c. of a dilution of egg-white with an equal volume of physiological salt solution. Hourly $2\frac{1}{2}$ c. c. of blood was drawn from the heart of this animal and injected intraabdominally into guinea-pigs.

Jan. 3, 1910, these pigs were treated with the egg-white dilution given intraperitoneally.

All, from the first to the fourth hour, died, the former in fifteen and the latter in twenty minutes. The fifth hour one was not sensitized. It should be stated that in all these experiments guinea-pigs found not to be sensitized to egg-white were subsequently tested and found to be sensitized to the blood serum of the rabbit.

(4) Egg-white injected intravenously in rabbits quickly disappears from the circulating blood.

Jan. 3, 1910, a rabbit received intravenously 50 c. c. of a dilution of egg-white with physiological salt solution (1:1). Every half hour blood was drawn from the heart of this animal and injected intraabdominally into guinea-pigs.

Jan. 22, 1910, these pigs were tested with the egg-white dilution.

The first two were found to be sensitized to egg-white while the others were not. The pig that received blood drawn at the end of the first hour died in a typical way within thirty minutes, while the blood drawn at the expiration of one and one half hour failed to sensitize.

Dec. 6, 1909, a rabbit received intravenously 50 c. c. of the egg-white dilution (1:1). Hourly, blood was drawn from the heart and injected into guinea-pigs. The first two were found to be sensitized while the others were not.

(5) Egg-white injected intravenously in rabbits may be detected in the peritoneal cavity after it has disappeared from the circulating blood.

Jan. 3, 1910, a rabbit received intravenously 50 c. c. of the egg-white dilution. Two and one half hours later and after the egg-white had disappeared from the heart's blood, as was shown by a subsequent test, some

physiological salt solution was injected into the peritoneal cavity, withdrawn and injected into a guinea-pig, which later was found to be sensitized to egg-white.

(6) Egg-white injected intravenously into rabbits may be detected in the bile.

Nov. 15, 1909, a rabbit received intravenously 50 c.c. of the egg-white dilution, one and one half hour later the abdominal cavity was opened, the animal being under ether, and small amounts of bile and washings from the small intestine were injected into guinea-pigs, all of which later were found to be sensitized to egg-white. Of four pigs thus treated all but one died, and this one developed marked symptoms when treated with the egg-white dilution.

(7) Egg-white when injected intravenously into a rabbit may be detected by the sensitization test in certain organs after it has disappeared from the circulating blood.

Dec. 6, 1909, at 8.45 A.M. a rabbit received intravenously 50 c.c. of a dilution of egg-white with an equal volume of physiological salt solution. 5 c.c. of blood was drawn from the heart of this animal at 9.45, 10.45 and 11.45 A.M., and at 1.45 P.M. Each of these portions were injected into the abdomen of a guinea-pig and one hour after the last blood was taken the rabbit was killed with ether, and extracts of the brain, liver, kidney and spleen, with physiological salt solution were made and injected into other fresh pigs. Dec. 17, 1909, each of the pigs that had been treated with the blood of the rabbit had 5 c.c. of egg-white dilution (1:1) intra-abdominally.

The only pig that gave any evidence of sensitization was the one that had received the first blood, drawn one hour after the injection of the egg-white. The symptoms in this animal were slight and transitory. The other pigs showed no indications of having been sensitized. It seems from this that after one hour there was no egg-white in the circulating blood of the rabbit. All of these pigs had been sensitized to the proteins of the rabbits' blood as was shown by treating them with rabbit serum.

Jan. 4, 1910, the guinea-pigs that had received the extracts of the organs were treated with the egg-white dilution. All were affected within a few minutes.

The one that had received the kidney extract was most seriously disturbed and passed to the convulsive stage, but ultimately recovered. The one that had the spleen extract came next in the severity of the symptoms developed. The

first and second stages were well marked in this animal; somewhat less so in the pig that had received the extract from the brain. Much to our surprise the pig that had received the extract from the liver was least affected. However, failure to sensitize with the extract from an organ does not necessarily mean that the tissue of the organ contained none of the foreign protein. It may combine with certain tissues so firmly that it is not removed by a simple solvent, like physiological salt solution. The fact that from certain organs the extracts did sensitize the pigs shows that these tissues had absorbed the egg-white, but failure to sensitize or to sensitize so fully with other extracts does not conclusively show that such tissues have not absorbed the protein.

(8) Egg-white carried into the tissue after intravenous injection may be washed back into the blood current by transfusion with salt solution.

A rabbit received intravenously 50 c.c. of the egg-white dilution. After one hour egg-white had disappeared from the circulating blood. Two and one half hours after the injection of the egg-white, the animal was transfused with physiological salt solution. During the transfusion, 2 c.c. portions of the fluid were drawn from the heart and injected into guinea-pigs. The last of these portions was drawn after one liter of the salt solution had passed through. All of these portions sensitized the guinea-pigs. After the transfusion, the brain, liver, spleen, kidney and the deltoid muscle were removed, and rubbed up with physiological salt solution. 2 c.c. of each of these extracts, after filtration, was injected into guinea-pigs. The one having the brain extract was not affected by the subsequent injection of egg-white. The one having the liver extract was in convulsions within five minutes after receiving the egg-white. The ones having the extracts from the spleen and muscle developed first and second stages of sensitization, but recovered, while the one that received the kidney extract was not affected.

We conclude from this that the brain and kidney were washed free of the egg-white by the transfusion, while the muscle, liver and spleen held the egg-white more tenaciously.

(9) The injection of egg-white intravenously in rabbits decreases after a few hours the total protein in the blood.

In reviewing the literature we have referred to the finding of Chiray that the intravenous injection of foreign proteins decreases the total proteins of the blood. His experiments were made with a refractometer. We deemed this of sufficient

importance to justify farther study. On one day blood was drawn from a rabbit and the serum obtained. On the next day this animal received 50 c.c. of the filtered egg-white dilution intravenously. Each c.c. of this dilution of egg-white contained 26 mg of protein, as calculated from a nitrogen determination. In other words, with the dilution there was introduced into the blood of the rabbit 1,3 g of foreign protein. On the day after the injection more blood was drawn and the serum from this secured. The total nitrogen in these sera was determined and the protein content calculated with following results:

Percent of protein in the blood serum before the injection of egg-white	10,5
Percent of protein in the blood serum after the injection of egg-white	8,18
Loss	2,32

This experiment was repeated on a second animal with the following results:

Percent of protein in the blood serum before the injection of egg-white	9,33
Percent of protein in the blood serum after the injection of egg-white	7,36
Loss	1,97

In a third animal the following results were obtained:

Percent of protein in blood serum before the injection of egg-white	7,90
Percent of protein in blood serum after injection of egg-white	6,50
Loss	1,40

It appears from these figures that the injection of egg-white intravenously in rabbits is followed by the disappearance of an appreciable amount of the normal proteins from the circulating blood. This confirms the finding of Chiray.

(10) The injection of a large amount of egg-white intravenously in rabbits proves fatal.

No. 1. 35 c.c. of undiluted egg-white filtered through cotton was slowly injected into the ear vein. The respiration was immediately embarrassed, and with a slight convulsive movement the animal died before it could be removed from the table. On opening the thorax the heart was found to be still beating and irregularly distended. The right side was dilated and filled with dark fluid blood. Markedly anemic areas were plainly seen in the lungs.

No. 2. 32 c.c. of the same was injected more slowly and through a finer needle. The result was practically the same.

No. 3. 40 c.c. was injected. The respiration became difficult and the animal quite limp. The right side was found to be paralyzed, but the

animal lived for two hours, when it died with failure of respiration, and without a movement. The heart was dilated and contained dark, fluid blood. Anemic areas were seen in the lungs and the muscles also were anemic.

A more detailed report of the pathological findings after poisoning with egg-white awaits more thorough study.

Zusammenfassung.

- 1) Eiereiweiß, in den Magen eines Kaninchens injiziert, kann zum Teil unverändert absorbiert werden.
- 2) Eiereiweiß, in den Mastdarm eines Kaninchens injiziert, kann wenigstens teilweise unverändert absorbiert werden.
- 3) Eiereiweiß, intraperitoneal Kaninchen injiziert, kann unverändert absorbiert werden.
- 4) Eiereiweiß, intravenös Kaninchen injiziert, verschwindet schnell aus dem zirkulierenden Blute.
- 5) Eiereiweiß, intravenös Kaninchen injiziert, kann, nachdem es aus dem zirkulierenden Blute verschwunden, in der Bauchhöhle nachgewiesen werden.
- 6) Eiereiweiß intravenös Kaninchen injiziert kann in der Galle nachgewiesen werden.
- 7) Eiereiweiß, intravenös Kaninchen injiziert, kann, nachdem es aus dem zirkulierenden Blute verschwunden, in gewissen Organen durch die Ueberempfindlichkeitsreaktion nachgewiesen werden.
- 8) Das nach intravenöser Injektion in das Zellengewebe getragene Eiereiweiß kann durch Transfusion von Salzlösung in das Blut zurückgewaschen werden.
- 9) Intravenöse Injektion von Eiereiweiß bei Kaninchen vermindert nach wenigen Stunden den Gesamteiweißgehalt des Blutes.
- 10) Größere Mengen Eiereiweiß wirken beim Kaninchen, intravenös injiziert, tödlich.

Nachdruck verboten.

[Aus der Akademischen Therapeutischen Klinik von weiland Prof. S. S. Botkin an der Militär-Mediz. Akademie zu St. Petersburg.]

Zur Frage der Vervollkommnung der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. S. Mintz.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Januar 1911.)

Die Zahl der bis jetzt vorgeschlagenen Modifikationen der Wassermannschen Reaktion ist ziemlich bedeutend. Nach den Zielen, welche die Autoren dieser Modifikationen im Auge haben, muß man dieselben in zwei Gruppen einteilen: Die eine ist bestrebt, die Technik zu vereinfachen bzw. dieselbe auch dem praktischen Arzt zugänglich zu machen; die andere bezweckt hauptsächlich, die Reaktion zu verfeinern und empfindlicher zu machen. Zu der ersten Gruppe gehören die Modifikationen von Müller, Taeye u. a.

Die Technik R. Müllers (1), deren Haupteigentümlichkeit darin besteht, daß die Quantität der für die Reaktion zur Verwendung gelangenden Flüssigkeiten nicht mittels Pipette gemessen, sondern in Tropfen abgezählt wird, wobei die Flüssigkeiten in minimalen Quantitäten verwendet werden, dürfte kaum Anspruch auf besondere Genauigkeit erheben können, namentlich wenn man den Einfluß der Oberflächenspannung auf die Größe des Tropfens in Betracht zieht, womit man beim Arbeiten mit minimalen Mengen von Reagentien natürlich rechnen muß.

Die Modifikation von Taeye (2) ist insofern von Interesse, als sie die zur Titrierung des Antigens erforderliche Zeit wesentlich kürzt (statt drei Stunden eine Stunde); jedoch konnten wir uns auf Grund besonderer, in unserem Laboratorium angestellter Experimente überzeugen, daß der Antigentiter nach Taeye stets höher ist als bei der Titrierung nach der alten Methode. Dies wird augenscheinlich dadurch bedingt, daß bei der Bestimmung des Antigentiters nach Taeye das Komplement im Brutschrank 1 Stunde, beim Grundexperiment 3 Stunden verweilt.

Aus den Beobachtungen von G. Meyer (3) wissen wir, daß das Verweilen des Komplements im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° die Energie desselben herabsetzt. Da das Komplement bei der Titrierung des Antigens nach Taeye der Wirkung der Bruttemperatur nur eine Stunde, bei der Titrierung nach der alten Methode jedoch drei Stunden ausgesetzt bleibt, so wird wahrscheinlich dadurch der hohe Antigentiter erklärt, der bei der Methode von Taeye herauskommt. Wenn wir uns somit der

Methodik des letzteren Autors bedienen, so vollziehen wir die Titrierung des Antigens mit einem konzentrierteren Komplement, während wir das Experiment mit einem schwächeren oder richtiger mit einem mehr geschwächten Komplement anstellen, was natürlich unzulässig ist.

Weidanz (4) arbeitet mit minimalen Flüssigkeitsmengen, indem er Pasteursche Pipetten verwendet. Meiner Meinung nach ist aber seine Technik bedeutend schwieriger als die Originaltechnik, und außerdem kann schon die kleinste Ungenauigkeit große Mißverständnisse zur Folge haben.

Zu der zweiten Gruppe von Modifikationen der serodiagnostischen Methode von Wassermann, die auf eine Verfeinerung der Reaktion hinausgehen, gehören die Methoden von Bauer, Foix, Tschernogubow, M. Stern, Hecht, Noguchi u. a.

Bauer (5) geht von der vollkommen richtigen Idee aus, daß der hämolytische Anti-Hammelambozeptor, der sich normaliter im Serum des Menschen befindet, den Gang der Reaktion wesentlich beeinflussen und, zum künstlichen (Kaninchen-) Anti-Hammelambozeptor, den wir für die Reaktion gewöhnlich verwenden, hinzukommend, vollständige oder partielle Hämolyse dort geben kann, wo eigentlich vollständige Fixierung des Komplements hätte zustande kommen sollen. Zur Beseitigung dieses wesentlichen Mangels der Wassermannschen Reaktion hat dieser Autor vorgeschlagen, statt des Kaninchenambozeptors den im Serum des Menschen existierenden Ambozeptor zu verwenden. Die Quantität des natürlichen Anti-Hammelambozeptors ist im Serum des Menschen jedoch bedeutenden Schwankungen unterworfen, so daß wir, wenn wir nach Bauer arbeiten, Gefahr laufen, bisweilen ein positives Resultat dort zu erzielen, wo das Resultat negativ ausfallen müßte. Würde man aber den Mangel des zu prüfenden Serums an natürlichem Ambozeptor durch Zusatz von an hämolytischem Ambozeptor reichem Normalserum korrigieren wollen, so würden wir dadurch die Reaktion bedeutend komplizieren und trotzdem mit einer unbekannten, nicht titrierten Ambozeptorquantität arbeiten müssen.

C. Stern ist, nachdem er 990 Sera nach der Methode von Bauer und nach der Originalmethode von Wassermann geprüft hat, zu dem Schlusse gelangt, daß nicht jeder Fall, der nach Bauer positiv reagiert, als Syphilis gedeutet werden könne. In diesen Worten liegt schon eine genügende Mahnung gegen die Bauersche Methode.

Foix (6) verwendet den natürlichen Ambozeptor des menschlichen Serums gegen die roten Blutkörperchen vom Kaninchen; seine Methode leidet somit, davon abgesehen, daß sie sich zu weit von der ursprünglichen Technik entfernt hat, an denselben Mängeln wie die Methode von Bauer.

Tschernogubow (7) immunisiert Kaninchen mit menschlichem Blute und verwendet den erhaltenen hämolytischen Ambozeptor statt des von Wassermann vorgeschlagenen Anti-Hammel-Kaninchenambozeptors. Außerdem nimmt er statt des Meerschweinchenkomplements das Komplement des zu prüfenden Serums. Jedoch ist durch die Experimente von

Jousset und Paraskevopoulos (8) erwiesen, daß der Komplementgehalt im menschlichen Serum bedeutenden Schwankungen unterworfen und häufig sehr gering ist.

Ferner geht aus den Untersuchungen von Noguchi hervor, daß das Komplement vom Menschen nicht imstande ist, den hämolytischen Anti-Hammelambozeptor zu reaktivieren. Wenn auch diese Ansicht nicht ganz zutreffend ist, so muß man doch anerkennen, daß das humane Komplement zur Entfaltung seiner Wirkung einer bedeutenden Quantität antihumanen Ambozeptors bedarf: dies geht schon daraus hervor, daß Tschernogubow für die Reaktion bis 0,25 ccm Ambozeptor verwendet, während Noguchi, indem er denselben antihumanen Ambozeptor mittels Meerschweinchen Serum komplettiert, für die Reaktion im ganzen 0,002 ccm davon nimmt. Ein weiterer wesentlicher Mangel der Tschernogubowschen Modifikation, durch den die Anwendung derselben überhaupt hinfällig wird, ist die Fibringerinnung (es wird für die Reaktion Vollblut verwendet), welche die Hämolyse wesentlich stört.

M. Stern (9) hat vorgeschlagen, statt des Meerschweinchenkomplements das Komplement des zu prüfenden Serums zu verwenden. Es soll dabei, wie die Verfasserin selbst und auch diejenigen, die ihre Methodik nachprüften, eine größere Anzahl von positiven Resultaten erzielt werden als bei der ursprünglichen Methodik. Jedoch wird der Wert dieser Methode wesentlich durch die Einräumung der Verfasserin selbst geschmälert, daß sie auch in nicht syphilitischen Fällen ein positives Resultat erhalten habe.

Von großem theoretischen Interesse ist die Frage, weshalb bei der Verwendung des Komplements des zu prüfenden Serums selbst einerseits bessere Resultate erzielt werden als bei der Verwendung des Meerschweinchenkomplements, andererseits aber bisweilen in Fällen, in denen es sich um normales Serum handelt, ein positives Resultat erzielt wird. Diese Frage erscheint mir wichtig genug zu sein, um auf dieselbe etwas ausführlicher einzugehen, und ich glaube, daß die Analyse der Citronschen Theorie von der Wesenheit der Wassermannschen Reaktion uns dem Verständnis dieser Frage etwas näher bringen kann.

Citron (10) betrachtet das syphilitische Antigen als ein Toxolipoid; in vivo bewirkt dies Antigen die Bildung von Antikörpern mit dem Charakter eines Ambozeptors, der lipoidophile und komplementophile Gruppen besitzt. Dadurch erklärt es sich, weshalb der Ambozeptor durch seine lipoidophile Gruppe das Lipoid allein fixieren kann, während das Lecithin in der Reaktion den syphilitischen Extrakt ersetzen kann. Wenn man einem Syphilitiker mit positiver Reaktion Lecithin injiziert, so wird letzteres in vivo vom Ambozeptor in derselben Weise fixiert, wie es in vitro vor sich geht, und die Reaktion kann infolge der Ausschaltung der lipoidophilen Gruppe des Ambozeptors schwach positiv oder sogar negativ ausfallen.

Dieser im großen und ganzen geistreichen Hypothese haften jedoch wesentliche Mängel an. Aus welchem Grunde glaubt der Autor, daß die Ausschaltung der lipoidophilen Gruppe des Ambozeptors durch das Lecithin in vivo die Reaktion stört, während wir bei analoger Ausschaltung in vitro ein positives Resultat erzielen? Tatsächlich haben wir es hier nicht mit einer Ausschaltung, sondern mit einer Verbindung des Lecithins mit dem Ambozeptor in vivo zu tun, welcher Prozeß, wenn ein Teil des Ambozeptors des zu prüfenden Serums freigeblieben ist, sich auch in vitro fortsetzt.

Es ist klar, daß diese beiden Prozesse sich nicht nur nicht ausschließen, sondern sich gegenseitig ergänzen. Meiner Meinung nach kann der Einfluß des Lecithins auf den Ausgang der Wassermannschen Reaktion folgendermaßen erklärt werden: Wenn in vivo eine Fixierung des Lecithins durch den syphilitischen Ambozeptor stattfindet, so muß ein Verschluß der ganzen Kette zustande kommen, d. h. die komplementophile Gruppe nimmt auch das Komplement auf, welches sich normaliter im Serum befindet. Im weiteren Verlauf bilden sich bei der Inaktivierung des Serums Komplementoide, die ihren Zusammenhang mit der komplementophilen Gruppe des syphilitischen Antikörpers behalten, wodurch das in vitro zugesetzte Meerschweinchenkomplement ungebunden, frei bleibt und sich, weil es in vitro einen freien syphilitischen Ambozeptor nicht vorfindet, mit dem hämolytischen Ambozeptor verbindet und Hämolyse bewirkt. War die Lecithinmenge im Serum unbedeutend, so wird sich nur ein unbedeutender Teil der komplementophilen Gruppe des syphilitischen Ambozeptors als durch die nach der Inaktivierung des zu prüfenden Serums entstandenen Komplementoide verpfropft erweisen, und wir werden in diesem Falle partielle Hämolyse oder sogar vollständige Hintanhaltung der Hämolyse haben.

Aus vorstehenden Ausführungen geht klar hervor, weshalb die Sternsche Modifikation in vielen Fällen bessere Resultate ergibt als die Originalmethodik. In denjenigen Fällen, in denen das Serum zahlreiche Lipide enthält, findet schon in vivo in mehr oder minder bedeutendem Grade Fixierung der Lipide und Komplemente durch den Ambozeptor statt; dieser Prozeß setzt sich nach der Hinzufügung des Antigens in vitro

fort. Da wir bei dieser Modifikation von außen kein Komplement hinzufügen und für die Reaktion das Komplement des zu prüfenden Serums selbst verwenden, so werden wir, wenn sich dies Komplement als vollständig gebunden erweist, ein positives Resultat erhalten; die alte Methode würde in solchen Fällen ein negatives Resultat ergeben, weil das hinzugefügte Meerschweinchenkomplement freibleiben und, sich im Ueberschusse befindend, nach der Seite des hämolytischen Ambozeptors abweichen würde.

Da die lipoidophilen Ambozeptoren nicht nur bei Syphilis, sondern auch bei einer ganzen Reihe von anderen Erkrankungen, beispielsweise bei Scharlach, bei Trypanosomeninfektion (Citron) sich bilden können, so ist es klar, daß die Sternsche Modifikation sich in vielen Fällen als nicht spezifisch erweisen kann.

Hecht (11) verwendet sowohl das Komplement wie auch den Ambozeptor des zu prüfenden Serums selbst, und infolgedessen müssen seiner Methode dieselben Mängel anhaften wie den Methoden von Bauer und Stern.

Noguchi (12) ist bestrebt, den größten Mangel der Wassermannschen Reaktion, nämlich den Einfluß des natürlichen Ambozeptors des Serums auf den Verlauf der Reaktion auszuschalten und verwendet für seine Experimente den antihumanen hämolytischen Ambozeptor, den er durch Immunisierung eines Kaninchens mit den roten Blutkörperchen vom Menschen gewinnt; das Experiment wird mit einer Emulsion von roten Blutkörperchen vom Menschen angestellt, das Komplement vom Meerschweinchen genommen. Auf Grund von 200 Experimenten, die parallel mit der Originalmethodik angestellt wurden, konnte sich Noguchi überzeugen, daß seine Modifikation bedeutend empfindlicher ist als die alte Methode. Zu demselben Schlusse ist auch Howards Fox (13) auf Grund seiner 187 Fälle gelangt.

Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß die Methode von Noguchi, die den Einfluß des natürlichen Antihämamelambozeptors des zu prüfenden Serums auf den Verlauf der Reaktion beseitigt, ein bedeutender Fortschritt im Sinne einer Verfeinerung der Wassermannschen Reaktion wäre, wenn er nicht von der so tief durchdachten Originalmethodik zu weit abgegangen wäre. Man muß damit rechnen, daß eine gewaltige Anzahl von Untersuchungen mittels der Wassermannschen Methodik ausgeführt wurde, und daß man zur Erhebung von vergleichbaren Befunden möglichst sich einer

mehr oder minder einförmigen Methodik bedienen müßte. Unsere Bestrebungen gehen natürlich auf eine Vervollkommnung der Wassermannschen Methodik hinaus. Nichtsdestoweniger muß man dabei Modifikationen, die vom Original zu sehr abweichen, vermeiden. Diese Forderung ist, wie aus den nachstehenden Ausführungen hervorgehen wird, leicht und ohne jeglichen Radikalismus ausführbar. Was die übrigen Mängel, die der Modifikation von Noguchi anhaften, betrifft, so möchte ich hervorheben, daß durch dieselbe der Einfluß der Verpfropfung des syphilitischen Ambozeptors durch die Komplementoide auf den Verlauf der Reaktion nicht beseitigt wird. Auf die Bedeutung dieser letzteren für die Wassermannsche Reaktion hat Wechselmann (14) als erster hingewiesen und zugleich vorgeschlagen, das Serum behufs Beseitigung der Komplementoide aus demselben mittels schwefelsauren Bariums zu bearbeiten.

Indem ich meine Methode zur Vervollkommnung der Wassermannschen Reaktion vorschlage, verfolge ich folgende Ziele: den Einfluß des natürlichen Antihämambozeptors des Serums und der Komplementoide auf den Verlauf der Reaktion zu beseitigen, ohne mich von der Originaltechnik sehr zu entfernen. Außerdem hielt ich es für sehr wichtig, mit streng titrierten Reagentien zu arbeiten. Letzteres wird meiner Meinung nach am besten durch Titrierung des Alkoholantigens vor jedem Experiment erreicht. Man kann nicht umhin, sich mit Maslakowetz und Liebermann (15) einverstanden zu erklären, daß wir, indem wir das Alkoholantigen unmittelbar vor dem Experiment titrieren, eo ipso auch die übrigen Elemente der Reaktion titrieren. Wenn auch die Titrierung des Antigens viel Zeit kostet, so halte ich dies nichtsdestoweniger für absolut notwendig, da dies die beste und vielleicht die einzige Methode ist, die uns in den Stand setzt, genau arbeiten zu können.

Nun möchte ich zur Frage der Beseitigung des Einflusses des natürlichen Ambozeptors aus der Reaktion übergehen. Nach den Untersuchungen von Noguchi wird, wenn zur Gewinnung von vollständiger Hämolyse im Beisein einer Ambozeptoreinheit 0,1 cm Komplement erforderlich ist, im Beisein von 4, 8, 20 Ambozeptoreinheiten derselbe Effekt

schon bei einer geringeren Komplementmenge, und zwar bei $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{10}$ seiner früheren Quantität erreicht. Nach den Untersuchungen desselben Autors schwankt die Quantität des natürlichen Ambozeptors in den verschiedenen Serumarten zwischen 0 und 20 Einheiten. Es ist klar, daß infolge der Anwesenheit einer so inkonstanten Größe unsere sämtlichen Bestrebungen, mit streng titrierten Reagentien zu arbeiten, gleich Null sind, und daß der reiche Gehalt des Serums an Ambozeptoren ein negatives Resultat der Reaktion in Fällen von zweifelloser Syphilis bewirken kann.

Um den natürlichen Antihammelambozeptor aus dem zu prüfenden Serum zu beseitigen, bediene ich mich folgenden einfachen Verfahrens: 0,4 cm des zu prüfenden Serums, durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 2,0 cm gebracht, werden in Zentrifugengläschen mit 2 ccm einer 5-proz. Emulsion von roten Blutkörperchen des Hammels vermengt und für die Dauer einer Stunde in den auf 37° eingestellten Brutschrank gebracht.

Nach der Ansicht von Sachs (16) bietet die hohe Temperatur günstigere Bedingungen zur Verbindung des hämolytischen Ambozeptors mit den Erythrocyten dar, und tatsächlich genügte bei 37° stets eine Stunde zur vollständigen Extrahierung des Ambozeptors aus dem Serum durch die Hammelerythrocyten. Außerdem haben wir bei dieser Versuchsanordnung stets die Möglichkeit, uns zu überzeugen, daß das inaktivierte Serum tatsächlich von aktivem Komplement frei ist. Die Untersuchungen von Zeissler (17) haben ergeben, daß es bei halbstündiger Inaktivierung des Serums bei einer Temperatur von 56° nicht immer gelingt, das Komplement zu zerstören, welcher Umstand seinerseits eine Quelle neuer Irrtümer abgeben kann. Der Eintritt der Hämolyse in meinen Zentrifugengläschen hätte auf das Vorhandensein von aktivem Komplement in meinem inaktivierten Serum hingewiesen.

Die Mischung muß in den Reagensgläsern von Zeit zu Zeit geschüttelt werden, da die roten Blutkörperchen sich auf dem Boden niederschlagen. Im weiteren Verlaufe werden die sensibilisierten Hammelerythrocyten durch Zentrifugieren ausgeschleudert, die obere, klare, wasserhelle Schicht der Flüssigkeit wird abgegossen und mit 2 ccm von dieser Flüssigkeit,

3*

die von dem zu prüfenden Serum einige Millimeter über 0,2 cm enthält, wird das Experiment vorgenommen.

Durch vorherige Bearbeitung des Serums mit Hammelerythrocyten wird jedoch nicht nur die Beseitigung des natürlichen Ambozeptors aus dem Serum erzielt, sondern wir befreien auf diese Weise dies letztere auch von den Komplementoiden, wenigstens von einem bedeutenden Teile derselben. In dieser Frage können wir uns auf die bekannten Experimente von Ehrlich und Sachs berufen.

Letztere fanden, daß die Erythrocyten vom Meerschweinchen im Beisein von inaktiviertem Hundeserum und von Meerschweinchenkomplement bei Brutschranktemperatur hämolysiert werden. Wenn man in den Brutschrank eine Mischung von roten Blutkörperchen des Meerschweinchens und von Hundeserum bringt und erst nach einer Stunde Meerschweinchenkomplement hinzusetzt, so tritt Hämolysie nicht ein. Davon aber, daß der Ambozeptor sich hier mit den roten Blutkörperchen verbunden hat, kann man sich leicht überzeugen, da das Serum, nachdem es von den Erythrocyten abzentrifugiert ist, nach Zusatz von neuen roten Blutkörperchen und Komplement sich als inaktiv erweist. Bekanntlich tritt bei 0° nur Fixierung des Ambozeptors durch die Erythrocyten ein, während das Komplement und die Komplementoide freibleiben. Von dieser Tatsache ausgehend, hat Ehrlich zwei Versuchsreihen angestellt: Eine Reihe von Reagenzgläsern, in denen sich Meerschweinchenerythrocyten und inaktiviertes Hundeserum befanden, wurden für die Dauer von 1½ Stunden in den Brutschrank bei 0° gebracht. In einem Teile der Reagenzgläsern (A) wurden die roten Blutkörperchen hierauf durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit befreit und bis zu einem gewissen Volumen mittels physiologischer Kochsalzlösung ergänzt. Ein anderer Teil der Reagenzgläsern (B) wurde gar keinen Manipulationen ausgesetzt. Hierauf wurden die einen Reagenzgläsern sowohl wie die anderen (A und B) für die Dauer einer Stunde in den Brutschrank gebracht, hierauf zentrifugiert, die Flüssigkeitsschicht abgegossen, zu den Erythrocyten im Bodensatz Komplement zugesetzt, alles mittels physiologischer Kochsalzlösung bis zu einem gewissen Volumen ergänzt und hierauf die Reagenzgläsern wieder in den Brutschrank gebracht. Bei dieser Versuchsanordnung trat Hämolysie nur in den Reagenzgläsern der Reihe A ein; somit waren im Hundeserum Körper enthalten, die eine Verstopfung des Ambozeptors in den Reagenzgläsern der Reihe B bewirkt haben.

Aus den vorstehenden Ausführungen geht klar hervor, daß bei meiner Versuchsanordnung, wo das zu untersuchende Serum zuvor mit Hammelerythrocyten bei Brutschranktemperatur in Berührung gebracht wird, außer dem natürlichen Ambozeptor auch die Komplementoide gebunden werden. Somit werden durch ein ziemlich einfaches Verfahren, fast

ohne von der Originalmethodik abzuweichen, aus dem Serum nicht nur der natürliche Ambozeptor, sondern auch die Komplementoide entfernt, die, wie aus den oben mitgeteilten Ehrlichschen Experimenten hervorgeht, auf den Verlauf der Reaktion der Hämolyse einen wesentlichen Einfluß ausüben.

In nachstehendem bringe ich eine Reihe von Experimenten, die ich mit verschiedenen Serumarten, die zuvor mit Hammelerythrocyten bearbeitet waren, angestellt habe. Die Kontrollexperimente wurden unter denselben Bedingungen ausgeführt wie die Hauptexperimente (zu gleicher Zeit, dieselben Antigene, derselbe hämolytische Ambozeptor, dasselbe Komplement und dieselbe Erythrocytensuspension).

Tabelle 1).

Initialen der Namen der Kranken	Zustand derselben zur Zeit des Experiments	Mit Hammel- erythrocyten bearbeitetes Serum	Mit Hammel- erythrocyten nicht bearb. Serum
Experiment I.			
D.	Krank seit 2 $\frac{1}{2}$ Jahren. 3 Kuren. Augenblicklich keine Erscheinungen	+++	±
K.	Krank seit 4 Monaten. 7 Injektionen. Augenblicklich keine Erscheinungen	+++	+++
M.	Krank seit 1 $\frac{1}{2}$ Jahren. 30 Injektionen; 100 Mergalkapseln. Augenblicklich keine Erscheinungen	+++	—
M.	Krank seit 5 Jahren. Augenblicklich keine Erscheinungen. Wurde nicht behandelt	+++	++
B.	Krank seit 1 Jahre. Keine Erscheinungen. 20 Injektionen	+++	+++
R.	Krank seit 3 Jahren. Keine Erscheinungen. 40 Injektionen, 60 Inunktionen, 4 Flaschen Jodkalium	—	—
F.	Gesund	—	—
K.	Krank seit 5 Monaten. 6 Injektionen. Augenblicklich keine Erscheinungen	+++	+++

1) Die Bezeichnung der Versuchsergebnisse ist folgende: +++ (drei Kreuze) vollständige Hemmung der Hämolyse, d. h. die Flüssigkeitsschicht oberhalb der Erythrocyten ist wasserhell; ++ (zwei Kreuze) bedeutender Niederschlag, beim Schütteln der gefärbten Flüssigkeit entsteht Trübung, die die Flüssigkeit vollständig undurchsichtig macht; + (1 Kreuz) unbedeutender Niederschlag, beim Schütteln entsteht Trübung, bei der man noch durch die Flüssigkeitssäule im Reagenzglas Schriftzeichen entziffern kann; ± (plus-minus) minimaler Niederschlag; — (minus) vollständige Hämolyse. — Es wurde Alkoholantigen aus der Leber einer syphilitischen Frucht verwendet. Vor jedem Experiment wurde der Titer festgestellt.

Initialen der Namen der Kranken	Zustand derselben zur Zeit des Experiments	Mit Hammel- erythrocyten bearbeitetes Serum	Mit Hammel- erythrocyten nicht bearb. Serum
Experiment II.			
E.	Krank seit 1 $\frac{1}{2}$ Jahren. Ecthyma. 19 Injektionen	+++	+++
D.	Krank seit 5 Monaten. Papeln. 17 Injektionen	+++	+++
W.	Krank seit 4 Jahren. Augenblicklich keine Er- scheinungen. 32 Injektionen. 57 Injektionen	+++	+++
F.	Krank seit 3 Monaten. Roseola. 6 Injektionen	+++	+++
L.	Krank seit 3 Monaten. Ulcus induratum. 4 In- jektionen	+++	+++
Sch.	Krank seit 1 Jahre. Sekundäre Erscheinungen. 30 Injektionen	+++	+++
K.	Krank seit 2 Monaten. Ulcus induratum. 4 In- jektionen	+++	+++
O.	Krank seit 4 Monaten. 9 Injektionen	+++	+++
B.	Krank seit 2 Jahren. 60 Injektionen	+++	+
J.	Krank seit 4 Monaten. Ulcus induratum. 10 In- jektionen	+++	+
M.	Verdächtig	+++	++
S.	Krank seit $\frac{1}{2}$ Jahre. Sekundäre Erscheinungen. 11 Injektionen	+++	+++
A.	Krank seit 2 Monaten. Roseola	+++	+
Experiment III.			
M.	Verdächtig	—	—
S.	Krank seit 8 Jahren. Keine Erscheinungen. Wurde nicht behandelt	+++	+++
S.	Gesund	—	—
G.	Ulcus induratum. Wurde nicht behandelt	+++	+++
B.	Verdächtig	+++	+
M.	Gummen in der Kniegegend	+++	+++
S.	Krank seit 3 Monaten. Roseola. 2 Injektionen	+++	+++
K.	Gummen in der Ellbogegegend. (Hereditäre Syphilis)	+++	+++
W.	Krank seit 3 Monaten. Ulcus induratum. 12 In- jektionen	+++	+++
K.	Lebercirrhose. Strahlenförmige Narben. Gelb- sucht	+	—
M.	Verdächtig	—	—
Experiment IV.			
K.	Gesund	—	—
L.	Krank seit 1 Jahre. Augenblicklich keine Er- scheinungen. Eine Kur	+++	+++
B.	Tabes dorsalis	+++	+++
N.	Lebercirrhose. Verdächtig	+++	+++
R.	Tabes dorsalis	+++	+++
M.	Tabes dorsalis (?). Infektion vor 6 Jahren	+++	++
P.	Infektion vor 20 Jahren. Während der letzten 10 Jahre war der Patient vollkommen gesund. Er wurde energisch behandelt	—	—

Aus der vorstehenden Tabelle geht klar hervor, wie weit die vorangehende Bearbeitung des zu prüfenden Serums mit Hammelerythrocyten die Wassermannsche Reaktion empfindlicher und feiner macht. Ich glaube, daß meine Modifikation auch noch in anderer Richtung von gewissem Interesse sein kann. Es ist möglich, daß die Beseitigung des natürlichen Ambozeptors aus dem Serum uns in den Stand setzen wird, der Lösung der Frage der quantitativen Bestimmung der die Wassermannsche Reaktion bedingenden Körper im Serum näher zu treten. Bekanntlich beobachtet man, wenn man das Experiment mit absteigenden Quantitäten des zu prüfenden Serums anstellt, nicht selten, daß eine große Dose Hämolyse gibt, während eine geringere Dosis Fixierung des Komplements zur Folge hat. Diese paradoxe Erscheinung, welche die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung der syphilitischen Antikörper im Serum mittelst Titrierung des letzteren ausschließt, ließe sich meines Erachtens folgendermaßen erklären: Angenommen, daß in 0,2 ccm des zu prüfenden Serums die syphilitischen Antikörper in einer größeren Quantität vorhanden sind als zur vollständigen Fixierung des Komplements erforderlich ist; das Vorhandensein einer sehr großen Quantität von natürlichen Antihammelambozeptoren kann jedoch nichtsdestoweniger im betreffenden Falle partielle Hämolyse bewirken. Wenn man nun für das Experiment eine Dosis von 0,1 Serum nimmt, so kann es vorkommen, daß an syphilitischen Antikörpern zur vollständigen Fixierung des Komplements noch vollkommen genug vorhanden ist, während eine zweimal so geringe Ambozeptorquantität schon unzureichend sein wird, um einen bemerkbaren Einfluß auf den Verlauf der Reaktion zu entfalten.

Aus vorstehenden Ausführungen geht hervor, daß die Beseitigung des natürlichen Antihammelambozeptors, dieses in jedem einzelnen Falle unberechenbaren Faktors, aus dem zu prüfenden Serum uns augenscheinlich in den Stand setzt, die syphilitischen Antikörper quantitativ bestimmen zu können.

Zum Schluß möchte ich darauf hinweisen, daß vor jedem Experiment eine Titrierung des Alkoholantigens in folgender Weise vorgenommen wird:

1 Std. im Brutschrank			2 Std. im Brutschrank nach Hinzufügung von 1 ccm einer 5-proz. Erythrocytenemulsion und des bis auf 1 ccm ergänzten Ambozeptors
Antigen auf 1 ccm ergänzt	Physiol. Kochsalzlös.	Komplement 10-proz.	Resultate
0,40	1 ccm	1 ccm	vollständige Hemmung
0,30	1 "	1 "	" "
0,25	1 "	1 "	partielle Hämolyse
0,20	1 "	1 "	" "
0,15	1 "	1 "	vollständige Hämolyse
0,10	1 "	1 "	" "

Für die Experimente nehmen wir $\frac{2}{3}$ der ersten, vollständig hämolysierenden Dose (Maslakowetz und Liebermann), im vorliegenden Falle 0,15, $\frac{2}{3} = 0,1$. Jedes Serum wird mindestens mit zwei Antigenen geprüft. Jedesmal prüfen wir das hämolytische System nach, stellen einen Kontrollversuch mit normalem Serum an und prüfen das zu untersuchende Serum in Abwesenheit von Antigenen nach. Um der Entstehung einer Trübung beim Zugießen von Antigen zu der physiologischen Kochsalzlösung vorzubeugen, befolgen wir die Vorschriften von Sachs (18). Die Registrierung der Versuchsergebnisse geschieht, nachdem die Reagenzgläschen 12 Stunden in Kälte gestanden haben.

Zusammenfassung.

Die proponierte Vervollkommnung der Wassermannschen Reaktion besteht in vorangehender Bearbeitung des zu prüfenden Serums mit Hammelerythrocyten im Brutschrank bei 37°, wodurch folgendes erreicht wird:

1) Der natürliche Antihammelambozeptor des zu prüfenden Serums wird innerhalb einer Stunde durch die Hammelerythrocyten vollständig extrahiert und somit sein Einfluß auf den Verlauf der Reaktion ausgeschaltet, ohne daß man sich, wie bei der Methode von Noguchi, von der Originaltechnik entfernt.

2) Das Serum wird von den Komplementoiden befreit, die für den Verlauf der Hämolyse von großer Bedeutung sind (Wechselmann, Ehrlich).

3) Die Wassermannsche Reaktion wird feiner und empfindlicher.

4) Die Beseitigung des natürlichen Antihammelambozeptors, dieses unberechenbaren Faktors, aus dem zu prüfenden Serum setzt uns augenscheinlich in den Stand, die syphilitischen Antikörper quantitativ zu bestimmen.

Es ist absolut notwendig, vor jedem Experiment das Alkohol-Antigen zu titrieren.

Literatur.

- 1) Müller, R., Wiener klin. Wochenschr., 1908, p. 282; Wiener med. Wochenschr., 1908, No. 51.
- 2) Taeye, Münchner med. Wochenschr., 1908, No. 33.
- 3) Meier, G., Berliner klin. Wochenschr., 1907, No. 51; 1908, p. 51.
- 4) Weidanz, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 50.
- 5) Bauer, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 16.
- 6) Foix, Société de Biologie, Juli 1909.
- 7) Tschernogubow, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 47.
- 8) Jousses, Société de Biologie, 1909.
- 9) Stern, M., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, 1909, Heft 3.
- 10) Citron, Deutsche med. Wochenschr., 1910, p. 483.
- 11) Hecht, Wiener klin. Wochenschr., 1908, p. 1742.
- 12) Noguchi, Münchner med. Wochenschr., 1909, No. 10.
- 13) Fox, New York Medical Record, 1909.
- 14) Wechselmann, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, 1909, Heft 5.
- 15) Maslakowetz und Liebermann, Russki Wratsch, 1909, No. 20.
- 16) Sachs, H., Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung.
- 17) Zeissler, Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 44.
- 18) Sachs, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 44.

Nachdruck verboten.

[Aus der Serologischen Abteilung des Hygienischen Instituts der
Deutschen Universität Prag.]

Methämolytische Reaktionen.

Von Prof. Dr. Oskar Bail und Dr. S. Suzuki.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Januar 1911.)

In einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ wurde unter Bestätigung der von Kiss, Liefmann und Cohn angestellten Versuche und Schlußfolgerungen dem Komplemente auch für die hämolytische Aktion desselben der Charakter eines Fermentes zugesprochen, wie dies Bail schon früher für die bakteriolytische Aktion behauptet hatte. Es läßt sich zeigen, daß bei der eigentlichen Hämolyse kaum ein Aufbrauch des Komplementes stattfinden kann; wenn dasselbe gleichwohl aktionsunfähig wird, so beruht dies teils auf sekundären, von Liefmann und Cohn genauer analysierten Umständen, teils auf dem Eintreten anderer Reaktionen in dem Lösungsprodukte der spezifischen Hämolyse, welche als methämolytische bezeichnet werden mögen. Die Hämolyse, der bloße Austritt des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen, stellt nur den ersten und auffälligsten Akt der bei Anwesenheit von Komplement und Immunkörper möglichen Vorgänge dar, wie ähnliches für die durch Serum an Bakterien veranlaßten Veränderungen bereits vor längerer Zeit nachgewiesen wurde.

Der bereits von Liefmann und Cohn angestellte Grundversuch besteht darin, daß man schwach und stark sensibilisierte Blutkörperchen mit der gleichen Menge von Komplement so lange zur Auflösung bringt, als noch Lösung stattfindet. Man bemerkt dabei ausnahmslos, daß von den stark sensibilisierten Blutkörperchen viel weniger als von den nur wenig sensibilisierten gelöst werden können. Läßt man dann eine bestimmte Menge wenig sensibilisierter Blutkörperchen durch Komplement lösen, teilt die erhaltene Flüssigkeit in zwei Teile und setzt dem einen derselben nachträglich hämolytischen Immunkörper

1) Diese Zeitschrift, Bd. 8, Heft 5/6.

zu, so vermag dieser jetzt weniger neue Blutkörperchen aufzulösen als der unverändert belassene. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß die methämolytische Reaktion nicht nur des Komplementes, sondern daß dieselbe auch noch des hämolytischen Immunkörpers bedarf. Die spezifisch hergestellte Lösung wenig sensibilisierter Blutkörperchen ist nicht ein abgesättigtes Endprodukt, sondern sie verhält sich noch durchaus wie ein Antigen, das mit dem hämolytischen Serum zusammen Komplement verbraucht. Dies läßt sich leicht und sicher nachweisen.

1. Je 0,5 ccm Schafblutkörperchen werden gewaschen und damit hergestellt:

- | | | | | | |
|----|-------------------|--------------------------------|----------|---|-------------------|
| 1) | 0,5 ccm Schafblut | + 0,02 ccm hämolyt. Immunserum | | | |
| 2) | 0,5 " | " | + 0,04 " | " | " |
| 3) | 0,5 " | " | + 0,08 " | " | " |
| 4) | 0,5 " | " | + 0,16 " | " | " |
| 5) | 0,5 " | " | + 0,02 " | " | " (als Kontrolle) |

Sämtliche Proben bleiben, auf 2 ccm aufgefüllt, über Nacht bei niedriger Zimmertemperatur stehen und werden zentrifugiert. In den Abgüssen wird die Menge des nicht gebundenen hämolytischen Immunkörpers durch Zusatz von 0,1 ccm Komplement und 1 ccm 5-proz. nicht sensibilisierten Schafblutes ermittelt, wobei sich herausstellte, daß er in sämtlichen Proben vollkommen durch die Blutkörperchen absorbiert war. Wie in allen späteren Versuchen ist das hämolytische Serum so eingestellt, daß 0,001 ccm mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum als Komplement gerade 1 ccm 5-proz. Blut auflöst.

Die sensibilisierten Blutsätze von 1—4 werden gewaschen, mit 0,8 ccm Komplement aufgelöst, auf je 3 ccm Flüssigkeit aufgefüllt und sofort nach beendeter Lösung in je 2 Teile geteilt:

- | | | |
|-----|--------------------|---|
| 1a) | 1,5 ccm der Lösung | von 1 + 0,11 ccm häm. Ser. in 0,5 ccm NaCl-Lös. |
| 1b) | 1,5 " | " " " " 1 + 0,5 " NaCl-Lösung |
| 2a) | 1,5 " | " " " " 2 + 0,09 " häm. Ser. in 0,5 ccm NaCl-Lös. |
| 2b) | 1,5 " | " " " " 2 + 0,5 " NaCl-Lösung |
| 3a) | 1,5 " | " " " " 3 + 0,06 " häm. Ser. in 0,5 ccm NaCl-Lös. |
| 3b) | 1,5 " | " " " " 3 + 0,5 " NaCl-Lösung |
| 4a) | 1,5 " | " " " " 4 + 0,02 " häm. Ser. in 0,5 ccm NaCl-Lös. |
| 4b) | 1,5 " | " " " " 4 + 0,5 " NaCl-Lösung |

Als Kontrolle dienen die Proben 5a und 5b, welche aus 2,2 ccm NaCl-Lösung mit 0,8 ccm Komplement ohne Blut hergestellt und in 2 gleiche Teile geteilt worden waren; 5a enthielt 0,11 ccm hämolytisches Serum, 5b blieb ohne Zusatz von solchem. Alle Proben standen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann wurde zu jeder 0,5 ccm 25-proz. 5-fach sensibilisiertes Schafblut so oft zugesetzt, als bei 37° noch Lösung erfolgte; die Lösungszeiten wurden notiert.

Probe 1a löste innerhalb 2 Stunden nicht.

„ 1b: 1) nach 5 Minuten

2) „ 4 „

3) „ 7 „

4) „ 11 „

5) „ 20 „

der 6. Zusatz wurde innerhalb 2 Stunden nicht gelöst.

Probe 2a löste innerhalb 2 Stunden nicht.

„ 2b: 1) nach 4 Minuten

2) „ $3\frac{1}{2}$ „

3) „ $7\frac{1}{2}$ „

4) „ 10 „

5) „ 61 „

weiter wurde nichts mehr gelöst.

Probe 3a löste nur einmal nach 17 Minuten.

„ 3b: 1) nach 5 Minuten

2) „ 8 „

3) „ 13 „

dann nicht mehr vollständig.

Probe 4a löste nur einmal nach 18 Minuten.

„ 4b löste nur einmal nach 11 Minuten, das zweitemal zwar noch stark, aber nicht mehr vollständig.

Kontrolle 5a: 1) nach $1\frac{1}{2}$ Minuten.

2) „ $4\frac{1}{2}$ „

der nächste Blutzusatz wurde nicht mehr ganz gelöst.

Kontrolle 5b: 1) nach $2\frac{1}{2}$ Minuten

2) „ $3\frac{1}{2}$ „

3) „ 4 „

4) „ $5\frac{1}{2}$ „

5) „ 8 „

6) „ $12\frac{1}{2}$ „

der nächste Blutzusatz war nach 30 Minuten fast ganz gelöst, doch wurde die Lösung nicht mehr vollständig.

II. Der Versuch war genau wie der vorige angestellt, nur daß die Sensibilisierung von je 0,5 ccm Schafblut mit den Mengen von 0,02, 0,06, 0,12 und 0,24 ccm hämolytischen Serums erfolgte. Der gesamte Immunkörpergehalt war dabei von den Blutkörperchen aufgenommen worden. Zu den gewaschenen Blutkörperchen wurde je 0,8 ccm Komplement zugesetzt; sofort nach eingetretener Lösung wurden die in je 2 gleiche Teile geteilten Proben in folgender Weise hergerichtet:

1a) 1,5 ccm Lösung 1 + 0,11 ccm hämol. Serum in 0,5 ccm NaCl-Lösung

1b) 1,5 „ „ 1 + 0,5 „ NaCl-Lösung

2a) 1,5 „ „ 2 + 0,09 „ hämol. Serum in 0,5 ccm NaCl-Lösung

2b) 1,5 „ „ 2 + 0,5 „ NaCl-Lösung

3a) 1,5 „ „ 3 + 0,06 „ hämol. Serum in 0,5 ccm NaCl-Lösung

3b) 1,5 „ „ 3 + 0,5 „ NaCl-Lösung

4a) 1,5 „ „ 4 + 0,02 „ hämol. Serum in 0,5 ccm NaCl-Lösung

4b) 1,5 „ „ 4 + 0,5 „ NaCl-Lösung

5a) 1,5 „ Kontrollflüssigkeit + 0,11 ccm häm. Ser. in 0,5 ccm NaCl-Lösung

5b) 1,5 „ „ + 0,5 „ NaCl-Lösung

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen bei 37° wurden zu jeder Probe je 0,5 ccm 25-proz. 3-fach sensibilisierten Blutes zugesetzt und die stattfindende Lösung notiert.

Probe 1a löste innerhalb 3 Stunden nicht.

„ 1b: 1) nach $17\frac{1}{2}$ Minuten,
2) „ 50 „
der dritte Zusatz „ wurde innerhalb 2 Std. zwar sehr stark, aber nicht vollständig gelöst.

Probe 3a löste innerhalb 3 Stunden nicht.

„ 3b: 1) nach 28 Minuten, der nächste Zusatz wurde innerhalb 2 Std. nicht mehr vollständig gelöst.

Die Proben 3a, 3b, 4a, 4b lösten innerhalb 3 Stunden nicht.

Probe 5a: 1) nach 1 Minute, der nächste Zusatz wurde innerhalb 2 Stunden nicht mehr ganz vollständig gelöst.

„ 5b: 1) nach $3\frac{1}{2}$ Minuten
2) „ $6\frac{1}{2}$ „
3) „ 17 „
4) „ 60 „
der nächste Zusatz wurde noch stark, aber nicht mehr vollständig gelöst.

In den beiden angeführten Versuchen bemerkt man sehr deutlich eine verschieden starke Wirkung des Komplementes; im übrigen sieht man ganz unzweideutig, wie die Lösung der Blutkörperchen je nach dem Grade der Sensibilisierung der erstgelösten Erythrocyten immer weniger Blut aufzulösen vermag, was nicht anders als durch Komplementverlust zu erklären ist. Ist aber die Komplementwirkung durch schwach sensibilisierte Blutkörperchen nur wenig geschädigt, so wird sie es sofort sehr stark, sobald man zu dieser Lösung frischen Immunkörper zusetzt. Wie die Kontrollproben zeigen, ist allerdings auch eine Komplementverdünnung, die noch keine Blutkörperchen aufgelöst hat, bei Zusatz von Immunkörper nicht imstande, so viel Blut aufzulösen wie die gleiche Probe, die ohne diesen Zusatz geblieben ist. Es handelt sich dabei offenbar um eine besondere Form der von Liefmann und Cohn entdeckten Erscheinung, daß stark sensibilisiertes Blut mehr Komplement verbraucht als wenig sensibilisiertes; die Besonderheit liegt darin, daß die Uebersensibilisierung sozusagen erst im Momente der durch das Komplement bewirkten Auflösung eintritt. Da aber innerhalb der kurzen Zeit, in welcher die Lösung erfolgte, unmöglich die ganze große Immunkörpermenge von den noch intakten Blutkörperchen gebunden worden sein kann, so bleibt nur die Annahme, daß das entstandene Lösungsprodukt seinerseits Immunkörper und damit auch Komplement verbraucht hat. Zu dem gleichen Schlusse gelangt man durch die Versuche mit dem fertigen Lösungs-

produkte, das in ungleich stärkerer Weise im gleichen Sinne wirkt.

Durch vielfach modifizierte Versuche wurde nun die Richtigkeit dieses Schlusses, d. h. der Immunkörperverbrauch durch das Lösungsprodukt der spezifischen Hämolyse, zu erweisen versucht. Eine noch recht primitive Anordnung zeigt der folgende Versuch.

III. Je 1 ccm Schafblut wurde mit der 2-fachen und der 24-fachen Menge Immunserum sensibilisiert (a und b) und hierauf sorgfältig gewaschen, in 4,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und je 0,5 ccm frisches Meerschweinchenserum als Komplement zugesetzt. Nachdem innerhalb einiger Minuten Lösung eingetreten war, wurde jede Probe, zu denen noch eine Kontrolle (c, enthaltend 0,5 ccm Komplement in 5 ccm NaCl-Lösung) trat, in zwei gleiche Teile geteilt; die Hälften a_1 , b_1 , c_1 erhielten einen Zusatz von 0,025 ccm hämolytischem Immunserum, die anderen, a_2 , b_2 , c_2 , blieben ohne diesen. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalt bei 37° wurde zu a_1 — c_1 je 0,5 ccm 25-proz. nicht sensibilisierten Blutes zugesetzt, während a_2 — c_2 ebenso konzentriertes Blut erhielten, das für 1 ccm 0,025 ccm hämolytisches Serum enthielt. Die Lösungszeiten sind notiert.

Die Probe a_1 löste überhaupt nicht, die Probe a_2 löste zweimal nach 5 Minuten und fast 2 Stunden, b_1 und b_2 lösten nicht, c_1 nach 1, 5 Min. und fast 2 Stunden, c_2 nach $1\frac{1}{2}$, 4, $4\frac{1}{2}$ Minuten und dann nicht mehr ganz vollständig nach 2 Stunden.

Es ist wahrscheinlich, daß in der Probe a_1 , durch die Blutkörperchenlösung der zugesetzte hämolytische Immunkörper gebunden war, da ja, wie a_2 zeigt, noch Komplement vorhanden war. Im übrigen treten ähnliche Eigentümlichkeiten wie in den bisher mitgeteilten Versuchen hervor, welche wohl einer genaueren Untersuchung wert wären. Immerhin hängt ihr Ausfall noch vom Komplemente ab, dessen Schicksal nicht leicht zu bestimmen ist und von dem man sich daher besser unabhängig macht, wenn es sich nur darum handelt, das Verhalten hämolytischer Immunkörper in spezifisch herbeigeführten Blutlösungen zu bestimmen.

IV. Die Methodik des Versuches besteht darin, zunächst Blut mit Hilfe von Immunkörper und Komplement zu lösen, dann neues Immunserum zuzusetzen und nach einiger Zeit die Komplementreste durch Erhitzen auf 56° zu zerstören. In der Flüssigkeit wird sodann der noch erhaltene Immunkörper durch Zusatz von Komplement und nicht sensibilisierten Blutkörperchen bestimmt. Dazu kamen Kontrollproben mit gleichviel Blutkörperchen, welche in gleicher Weise behandelt, aber nicht durch Komplement zur Auf-

lösung gebracht waren. Die Lösung derselben erfolgte erst nach Vollendung der beabsichtigten Reaktionen.

- 1) 0,25 ccm Schafblut + 0,005 ccm hämolyt. Serum + 0,25 ccm Komplement
- 2) 0,25 " " + 0,015 " " " + 0,25 " "
- 3) 0,25 " " + 0,03 " " " + 0,25 " "

Sofort nach der bei 37° innerhalb einiger Minuten aufgetretenen Hämolyse wurde zu allen Proben je 0,05 ccm hämolytisches Serum zugesetzt. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Verweilen bei 37° wurden die auf 2 ccm aufgefüllten Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

- 4) 0,25 ccm Schafblut + 0,055 ccm hämolytisches Serum
- 5) 0,25 " " + 0,065 " " "
- 6) 0,25 " " + 0,08 " " "

Die Proben blieben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann wurde einer jeden 0,25 ccm Komplement zugesetzt und sofort nach eingetretener Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert. Als Kontrolle 7 kam noch eine Probe hinzu, welche 0,05 ccm hämolytischen Serums in NaCl-Lösung mit 0,25 ccm Komplement enthielt, das gleichfalls $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert wurde.

Flüssigkeit 1			Flüssigkeit 2			Flüssigkeit 3		
1 ccm	komplett		1 ccm	komplett		1 ccm	komplett	
0,5 "	sehr stark		0,5 "	fast komplett		0,5 "	"	
0,25 "	wenig		0,25 "	deutlich		0,25 "	stark	
0,1 "	0		0,1 "	Spur		0,1 "	Spur	
			0,05 "	0		0,05 "	0	

Flüssigkeit 4			Flüssigkeit 5			Flüssigkeit 6			Flüssigkeit 7		
1 ccm	komplett		1 ccm	komplett		1 ccm	komplett		1 ccm	komplett	
0,5 "	sehr stark		0,5 "	fast kompl.		0,5 "	"		0,5 "	"	
0,25 "	wenig		0,25 "	deutlich		0,25 "	stark		0,25 "	"	
0,1 "	0		0,1 "	Spur		0,1 "	Spur		0,1 "	"	
			0,05 "	0		0,05 "	0		0,05 "	"	

Da 0,001 ccm des hämolytischen Serums die für 1 ccm 5-proz. Blut gerade ausreichende Dosis darstellt, so ergibt eine Berechnung, daß in dem Gesamtquantum von 2 ccm noch enthalten waren:

bei den Flüssigk. 1 und 4 von 55 lös. Dosen noch ca. 3—4, absorb. ca. 52
 " " " 2 " 5 " 65 " " " " 4, " " 61
 " " " 3 " 6 " 80 " " " " 6, " " 74

V. Analog dem vorigen Versuche angestellt.

- 1) 0,25 ccm Schafblut + 0,005 ccm häm. Ser. + 0,15 ccm Kompl. akt.
- 2) 0,25 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " "
- 3) 0,25 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " "
- 4) 0,25 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " $\frac{1}{2}$ Std. 56°
- 5) 0,25 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " $\frac{1}{2}$ " 56°
- 6) 0,25 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " $\frac{1}{2}$ " 56°
- 7) 1 " NaCl-Lös. + 0,005 " " " + 0,15 " " akt.
- 8) 1 " " + 0,005 " " " + 0,15 " " $\frac{1}{2}$ Std. 56°

Bei 37° tritt in den Proben 1—3 in wenigen Minuten Lösung ein; sobald sie sämtlich ganz durchsichtig geworden waren (12 Minuten), wurde neuerlich hämolytisches Immunserum zugesetzt, und zwar zu 1, 4, 7, 8 je 0,02 ccm, zu 2 und 5 je 0,045 ccm, zu 3 und 6 je 0,07 ccm; dann blieben alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° im Wasserbade. Schließlich erhielten 1, 2, 3 und 7 einen Zusatz von je 0,15 ccm inaktivem, 4, 5, 6 und 8 von aktivem Komplement. Danach trat auch in 4—6 in wenigen Minuten Lösung ein, worauf sämtliche Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt wurden. Durch Zusatz von je 0,1 ccm Komplement und je 1 ccm 5-proz. sensibilisierten Blutes zu verschiedenen Mengen der Flüssigkeiten wurde sodann deren restliche lösende Kraft bestimmt. Es lösten 1 und 4 mit 1 ccm gerade noch erkennbar, 2 und 5 mit 1 ccm komplett, mit 0,5 ccm fast komplett, 3 und 6 mit 1 und 0,5 ccm komplett, mit 0,25 ccm fast komplett, 7 und 8 noch mit 0,1 ccm komplett. Danach ergibt eine Berechnung, daß noch lösende Dosen erhalten waren in:

- 1 und 3 keine ganze mehr, also absorbiert von insgesamt 25 fast alles,
- 2 und 5 noch 4, also absorbiert ca. 46 von insgesamt 50,
- 3 und 6 noch 8, also absorbiert ca. 67 von insgesamt 75.

Die Versuche sprechen vollständig eindeutig in dem Sinne, daß das Lösungsprodukt aus sensibilisierten Blutkörperchen noch seinerseits imstande ist, Immunkörper zu binden und zwar innerhalb der durch die Versuchsanordnung gegebenen Grenzen genau so viel, wie die noch intakten Blutkörperchen selbst. Nun enthält die Lösung allerdings noch die Stromata der Blutkörperchen, und wenn man diesen mit Recht den Hauptanteil der bindenden Wirkung für den hämolytischen Immunkörper zuschreibt, so würden die Versuche ihre Deutung in dem Sinne zu finden haben, daß den rückbleibenden körperlichen Elementen des Blutes der weitere Immunkörperverbrauch zukommt¹⁾. Diese Erklärung, wenn es eine solche ist, würde weitere Versuche erfordern, würde aber der Bedeutung des starken Immunkörperaufbrauchs nur wenig gerecht werden. Diese liegt vielmehr darin, daß der Akt der Hämolyse in keiner Weise das Ende der zwischen Antigen und Antikörper möglichen Reaktion bedeutet. Denn der starke Immunkörper- und weiterhin Komplementverbrauch seitens der gelösten Blutkörperchen deutet auf die weitere, methämolytische Reaktion hin, für welche der Akt der Hämolyse sozusagen nur die Vorbereitung bildet. Ist dies aber richtig, so beweist

1) Anmerkung zur Korrektur: Neuerlich angestellte Versuche sprechen durchaus in diesem Sinne.

das, daß die sogenannten hämolytischen Seren viel intensivere Wirkungen am Antigen auszuüben imstande sein müssen, als man ihnen in der Regel zuschreibt. Geht man von da auf die Bildungsweisen dieser Seren zurück, so läßt sich leicht erkennen, daß schon sehr geringe Mengen von artfremden Blutkörperchen, welche man einem Tiere injiziert, zu sehr großen Veränderungen in der Beschaffenheit von dessen Säften führen müssen. Denn, wenn die normalen Immunkörper sich analog wie die immunisatorisch gebildeten verhalten, zu welcher Annahme man wohl berechtigt ist, so ist deren Verbrauch nicht nur durch die Hämolyse, sondern auch durch die folgende Methämolyse ein so großer, daß man kaum mehr das Recht hat, von unverhältnismäßig kleinen Ursachen für große Wirkungen zu sprechen. Es geht dann bei der Hämolyse genau so wie bei der Bakteriolyse, wo ebenfalls die Antikörperbildung sehr viel von ihrer Rätselhaftigkeit verliert, sobald man erkennt, daß die injizierte Bakteriensubstanz durch die normale Bakteriolyse noch keineswegs beseitigt ist, sondern auch nach derselben noch immer im Sinne einer Inanspruchnahme der Säfteaktivität fortwirkt.

Im Grunde genommen sind es ja nur zwei Eigentümlichkeiten, welche der Antikörperbildung etwas so Ungewöhnliches verleihen, daß sie zur Aufstellung eigener Theorien herausforderten: die Spezifität der gebildeten Reaktionsstoffe und ihre, im Verhältnis zum injizierten Antigen überaus große Menge. Es ist allgemein zugegeben, daß die ältere Erklärung der Antikörperbildung, die in Metschnikoff und Buchner bedeutende Vertreter hatte und die die Antikörper als irgendwie durch den Organismus modifizierte Abkömmlinge der eingeführten Antigene ansah, die Spezifität aufs beste erklären würde. Diese Annahme konnte sich hauptsächlich wegen des Mißverhältnisses, das zwischen der Menge des eingeführten Antigens und der Menge der gebildeten Antikörper besteht, nicht durchsetzen und wurde infolgedessen weiter nicht diskutiert. Sie ist aber aller Beachtung wert, sobald sich herausstellt, daß dieses Mißverhältnis nur ein scheinbares ist. Wenn sehr kleine Mengen von Blut, wie in den bekannten Versuchen von Friedberger, die Ausbildung eines Serums veranlassen,

das die mehrtausendfache Menge des gleichen Blutes zu lösen vermag, so besteht allerdings den Zahlen nach ein sehr bedeutendes Mißverhältnis zwischen Ursache und Wirkung. Jedoch auf die bloße Zahl der als Antigen verwendeten Blutkörperchen kommt es viel weniger an, als auf den Effekt, den sie im Organismus auszuüben vermögen. Dieser ist aber, wenn man aus den Reagenzglasversuchen überhaupt einen Schluß auf die Verhältnisse des Tierkörpers ziehen darf, ein überaus mächtiger, er erschöpft sich nicht mit der bloßen Zellzerstörung in der Hämolyse, sondern wirkt über diese hinaus noch als Methämolyse weiter. Infolgedessen muß es in den Säften eines behandelten Tieres zum Schwund der normalen hämolytischen Immunkörper in den größten Dimensionen kommen, der allerdings nicht mehr im Verhältnis zu der geringen Zahl der eingeführten Blutkörperchen zu stehen scheint. Erfolgt dann ein Ersatz des Verlustes, so betrifft dieser naturgemäß ebenfalls große Immunkörpermengen, für die dann noch der spezifische Charakter zu erklären ist, wofür ebenfalls bereits Anhaltspunkte von der Untersuchung der bakteriziden Serumwirkungen her vorliegen.

Hier möge vorläufig nur noch ein Umstand hervorgehoben werden, den die Auffindung der Methämolyse zu erklären imstande sein dürfte. Es ist längst bekannt, daß zur bloßen Hämolyse von Blut relativ nur wenig hämolytische Immunkörper nötig sind, während Blutkörperchen ein hohes Vielfaches dieser Menge zu binden oder absorbieren imstande sind. Ebenso bekannt, aber nicht recht befriedigend, sind die für diese Erscheinung gegebenen Erklärungsversuche. Das Bestehen der Methämolyse ergibt in dieser Hinsicht neue Möglichkeiten. Ein Blutkörperchen ist offenbar ein Ding, dessen Verarbeitung durch die Aktivität der Säfte in sehr intensiver Weise und in mehrfachen Etappen erfolgt, stets von einem wirklichen oder scheinbaren Immunkörper- und Komplementverbrauch begleitet. Da die bloße Hämolyse aber nur sehr wenig Immunkörper und Komplementes bedarf, so erscheint sie nur als eine Vorbereitung, eine Art Aufschließung der Zellen, deren Stoffe dann in der zweiten Etappe, der Methämolyse in intensiverer Weise verarbeitet werden. Immerhin müssen sie schon in der intakten Zelle vorhanden sein und

innerhalb derselben werden sie die gleiche Bindungskraft für den zu ihrer Verarbeitung erforderlichen Serumimmunkörper haben. Es wird also ein Blutkörperchen nicht so viel Immunkörper absorbieren wie zur Hämolyse, sondern wie zur Hämolyse + Methämolyse nötig ist, wodurch sich der scheinbar übermäßige und für die einfache Hämolyse tatsächlich unnötige Verbrauch an Immunkörpern ohne weiteres erklärt. Der daraus weiter folgende Schluß ist dann der, daß der sogenannte hämolytische Immunkörper nicht nur die Auflösung der Erythrocyten, den Austritt des Hämoglobins zu besorgen, sondern auch noch weitere Reaktionen an der bereits zerstörten Zelle zu vollziehen hat.

Demgemäß müßte sich im Versuche nachweisen lassen, daß das Lösungsprodukt von schwach sensibilisierten Blutkörperchen noch ebensoviel Immunkörper zum Verschwinden bringt, als die intakten Blutkörperchen, aber nicht mehr. Gelänge es hingegen, Blutkörperchen so vollständig mit dem hämolytischen Immunkörper zu sättigen, daß sie keinen neuen mehr aufzunehmen imstande sind, so dürfte auch das Lösungsprodukt zu keinem weiteren Immunkörperverbrauche führen.

Die bereits mitgeteilten Versuche IV und V sprechen schon in diesem Sinne. So sind in V die mit 5 lösenden Dosen sensibilisierten Erythrocyten sowohl in intaktem wie in gelöstem Zustande noch befähigt, neuen Immunkörper zu binden und zwar innerhalb der Versuchsdauer von $\frac{1}{2}$ Stunde um so mehr, je mehr zugesetzt wurde. Dabei bleibt ein Rest des Immunkörpers immer ungebunden, so lange es sich um kurze Zeiten handelt; er ist bei bloß 25 insgesamt zugesetzten lösenden Dosen sehr gering, wird bei 50 und noch mehr bei 75 größer, wobei man sofort bemerkt, daß die gleiche Menge Blutkörperchen oder deren Lösung, die bei Zusatz von 75 lösenden Dosen ca. 67 zu binden vermag, bei Zusatz von 50 keineswegs alle, sondern nur etwa 46 bindet, wie bekannt also dem Massengesetze gehorcht. Wesentlich ist, daß genau das gleiche geschieht, ob man den zugesetzten Immunkörper vor oder nach erfolgter Lösung des Blutes zufügt.

VI. Man erhält das gleiche Resultat wie im IV. und V. Versuche, wenn man zu Blut, das eine Mal mit, das andere Mal ohne Komplement

4*

wechselnde Immunkörpermengen zusetzt und die danach zurückbleibenden Immunkörper quantitativ bestimmt.

Es wurde je 0,1 ccm gewaschenen Schafblutes in 3 Eprouvetten mit 0,005, 0,015 und 0,05 ccm Immunserum versetzt, sofort je 0,1 ccm Komplement zugesetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Ganz in gleicher Weise, aber ohne Komplementzusatz, wurde eine zweite Serie von Proben hergestellt. Nachher wurde zentrifugiert und die abgegossenen Flüssigkeiten nach vorhergegangener Erwärmung auf 56° und Verteilung in bestimmte Quantitäten durch Zusatz von je 1 ccm nicht sensibilisierten Blutes und 0,1 ccm Komplement auf ihren Immunkörpergehalt geprüft.

Es stellte sich heraus, daß in vollkommen gleicher Weise, ob infolge des Komplementzusatzes Lösung eingetreten war oder nicht, die gleiche Menge der zugefügten Immunkörper verschwunden war und zwar diesmal in allen Proben fast sämtliche bis auf kleine Reste.

Eine größere Versuchsreihe wurde in der Weise ange-
stellt, daß Blut mit bestimmten Immunserummengen versetzt
und dann der Lösung durch Komplement überlassen wurde.
Hierauf wurden wechselnde Mengen frischen Immunserums
zugesetzt und nach langer Bindungszeit der restliche Immun-
körpergehalt in gewöhnlicher Weise bestimmt.

VII. Es werden hergestellt:

1)	1 ccm 25-proz. Schafbl.	+ 0,02 ccm häm. S.	+ 0,25 Kpl. akt.	+ 0,02 ccm häm. S.	
2)	1 "	" "	+ 0,02 " "	+ 0,25 " "	+ 0,06 " "
3)	1 "	" "	+ 0,02 " "	+ 0,25 " "	+ 0,1 " "
4)	1 "	" "	+ 0,02 " "	+ 0,25 " "	+ 0,02 " "
5)	1 "	" "	+ 0,02 " "	+ 0,25 " "	+ 0,06 " "
6)	1 "	" "	+ 0,02 " "	+ 0,25 " "	+ 0,1 " "
7)	1 "	NaCl-Lösung	+ 0,02 " "	+ 0,25 " akt.	+ 0,02 " "

Der Zusatz der zweiten Portionen des hämolytischen Serums erfolgte erst, als in 1—3 vollständige Lösung des Blutes eingetreten war; dann blieben alle Röhrchen über Nacht bei Zimmertemperatur stehen, wurden auf 3 ccm Gesamtflüssigkeit aufgefüllt, zentrifugiert und $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Die obenstehende Flüssigkeit war in der Probe 6 stark rot. Die in verschiedener Menge verteilten Abgüsse wurden unter Zusatz von 0,1 ccm Komplement und 1 ccm 5-proz., nicht sensibilisierten Blutes auf ihren Immunkörpergehalt geprüft. Es traten Lösungen auf bei 1 mit 1,5 ccm nicht ganz, aber fast vollständig, bei 4 mit der gleichen Menge nicht, 2 löste mit 0,75 fast vollständig, 5 mit 1,5 ccm, 3 löste mit 0,25 ccm noch vollständig, 6 mit 0,5 ccm fast vollständig, mit 0,25 ccm noch stark, die Kontrolle 7 löste noch mit 0,075 ccm vollständig. Die Berechnung ergab, daß noch lösende Immunkörperdosen enthalten waren:

in 1	von insges.	40	noch ca.	2,	absorb.	38,	in 4	war fast alles	absorb.
" 2	" "	80	" "	4,	" "	76,	" 5	absorbiert	ca. 78
" 3	" "	120	" "	12,	" "	108,	" 6	" "	" 114

VIII. Je 1 ccm 25-proz. Schafblutes wurde in 6 Röhrchen mit je 0,01 ccm hämolytischen Serum versetzt. Zu den Proben 1—3 kam je 0,25 ccm aktives, zu 4—6 ebensoviel inaktives Komplement. Sobald in 1—3 klare Lösung eingetreten war, wurde zu 1 und 4 je 0,02, zu 2 und 5 je 0,05, zu 3 und 6 je 0,09 ccm hämolytisches Serum zugefügt, worauf die Proben über Nacht bei Zimmertemperatur standen und dann zentrifugiert wurden. In 6 und weniger stark in 5 war dabei deutliche Lösung eingetreten. Nach Erwärmung auf 56° wurde der restliche Immunkörpergehalt bestimmt, wobei sich ergab, daß in 1 und 4 die insgesamt zugesetzten 30 lösenden Dosen bis auf geringe, weniger als eine lösende Dosis betragende Reste verschwunden waren. In 2 waren von 60 lösenden Dosen 56—58 absorbiert, in 5 nahezu 60, in 3 ca. 94, in 6 ca. 96.

Auch in dieser Versuchsanordnung ergibt sich daher die starke Absorption der hämolytischen Immunkörper durch das spezifische Lösungsprodukt, die nur ganz unbedeutend geringer ist als die, welche noch intakte, aber bereits sensibilisierte Blutkörperchen selbst ausüben.

Besonders zahlreiche Versuche wurden dann noch in der Art angestellt, daß Blut verschieden stark sensibilisiert wurde, stets unter Bestimmung der von demselben absorbierten Immunkörpermenge. Die danach gewaschenen Blutkörperchen wurden sodann mit Komplement zur Lösung gebracht und die Lösung neuerlich mit Immunkörper versetzt, dessen Abnahme dann zahlenmäßig festgestellt wurde.

IX. Es wurden hergestellt:

1)	0,1 ccm Schafblutkörper.	+ 0,005 ccm hämol. Serum	in 2 ccm Flüssigkeit
2)	0,1 „ „	+ 0,015 „ „	„ 2 „ „
3)	0,1 „ „	+ 0,03 „ „	„ 2 „ „
4)	0,1 „ „	+ 0,06 „ „	„ 2 „ „
5)	0,1 „ „	+ 0,15 „ „	„ 2 „ „

Die Proben blieben über Nacht bei Zimmertemperatur, wurden sodann zentrifugiert, wobei die in 5 eingetretene partielle Lösung festgestellt wurde; die Abgüsse dienten zur Bestimmung des noch vorhandenen Immunkörpergehaltes. Dabei stellte sich heraus, daß in den Proben 1—4 kein Immunkörper mehr vorhanden war, während in 5 sich noch 2—3 lösende Dosen vorfanden. Die abzentrifugierten, jetzt sensibilisierten Blutkörperchen wurden sorgsam gewaschen und damit hergestellt:

1)	Satz von 1 + 0,05 ccm Komplement	+ 0,155 ccm hämolytisches Serum
2)	„ „ 2 + 0,05 „ „	+ 0,145 „ „
3)	„ „ 3 + 0,05 „ „	+ 0,13 „ „
4)	„ „ 4 + 0,05 „ „	+ 0,1 „ „
5)	„ „ 5 + 0,05 „ „	+ 0,01 „ „

Der Zusatz des hämolytischen Serums erfolgte erst nach dem Komplementzusatz, als schon in allen Proben klare Lösung der Blutkörperchen eingetreten war; dann blieben alle Röhrchen 1 Stunde bei 37°, wurden $\frac{1}{4}$ Stunde auf 55° erwärmt und unter Zusatz von 0,1 ccm Komplement und 1 ccm 5-proz., nicht sensibilisierten Blutes verteilt. Die Gesamtflüssigkeit jeder Probe, die unter Einrechnung der zur Sensibilisierung benutzten Immunkörper je 160 lösende Dosen erhalten hatten, betrug 2 ccm.

			Hämolyse nach 2 Stunden in					Kontroll.
			1	2	3	4	5	
1	ccm	(80 i. D.)	stark	deutlich	deutlich	deutlich	deutlich	komplett
0,5	"	(40 ")	"	stark	stark	stark	komplett	"
0,25	"	(20 ")	komplett	komplett	komplett	komplett	"	"
0,1	"	(8 ")	"	"	"	fast kpl.	stark	"
0,05	"	(4 ")	wenig	deutlich	wenig	wenig	wenig	"
0,025	"	(2 ")	0	0	0	0	0	"
0,0125	"	(1 ")	0	0	0	0	0	"

Das hämolytische Ergebnis ist hier vollständig aufgenommen, um auf eine bei diesen Versuchen sehr oft beobachtete Erscheinung hinzuweisen, daß nämlich, als eine Art Komplementablenkung, die höheren Dosen der abzentrifugierten Flüssigkeiten schwächer lösten als die niedrigeren. Berechnet man das Resultat, so ergibt sich, daß von den insgesamt zu jeder Blutprobe zugesetzten 160 lösenden Dosen noch vorhanden waren:

in 1	20, daher absorbiert	140
" 2	20, " "	140
" 3	20, " "	140
" 4 fast	20, " "	fast 140
" 5 ca.	10, " "	147

In der Probe 5 liegt die noch vollständig lösende Dosis der abzentrifugierten Flüssigkeit zwischen 0,25 und 0,1 ccm, so daß die genaue Bestimmung nicht vorgenommen werden konnte, doch dürften noch ca. 10 lösende Dosen in den 2 ccm dieser Probe vorhanden gewesen sein. Berücksichtigt man weiter, daß in derselben von den zur Sensibilisierung benutzten 150 lösenden Dosen nicht alle, sondern nur etwa 147 gebunden worden waren, so hatte sie statt 160 nur etwa 157 lösende Dosen enthalten, von denen etwa 147 nicht mehr aufzufinden, also absorbiert waren. Das ist aber fast genau die gleiche Absorptionsziffer wie für die anderen 4 Proben, so daß sich der Schluß ergibt, daß die Lösung von sensibilisierten Blutkörperchen umso weniger neuen Immunkörper zu binden vermag, je stärker die zur anfänglichen Sensibilisierung benutzte Menge des hämolytischen Serums war. Bezieht man das Resultat aber auf die Gesamtmenge der überhaupt durch eine bestimmte Menge von Blutkörperchen gebundenen Immunkörper, so kommt man zu dem Satze, daß von Blut, gleichgültig, ob dessen Körperchen intakt oder bereits spezifisch gelöst sind, immer dieselbe Menge von Immunkörpern gebunden wird. Denn im Versuch waren gebunden worden:

in 1)	durch Blut	5	lösende Dosen,	durch die Lös.	135,	zusammen	140
„ 2)	„	15	„	„	125,	„	140
„ 3)	„	30	„	„	110,	„	140
„ 4)	„	60	„	„	80,	„	140
„ 5)	„	147	„	„	wenig,	„	147

X. Es werden hergestellt:

1)	0,1 ccm Schafblutkörper.	+ 0,005 ccm hämol. Serum	in 2 ccm Flüssigkeit
2)	0,1 „	+ 0,01 „	2 „
3)	0,1 „	+ 0,025 „	2 „
4)	0,1 „	+ 0,05 „	2 „
5)	0,1 „	+ 0,1 „	2 „

Die Proben bleiben über Nacht bei Zimmertemperatur stehen, werden dann zentrifugiert und die Abgüsse dienen zur Bestimmung der gebundenen Immunkörpermenge.

Es ergab sich, daß in keinem Abgusse mehr eine vollständig lösende Dosis vorhanden war. — Die Blutkörperchensätze wurden sorgsam gewaschen, mit je 0,05 ccm Komplement zur Lösung gebracht und gleich darauf für 1—5 mit 0,105, 0,1, 0,085, 0,06, 0,01 ccm des hämolytischen Serums 1 Stunde bei 37° belassen. Nach $\frac{1}{4}$ -ständiger Inaktivierung bei 56° wurde in der gewöhnlichen Weise der rückgebliebene Immunkörpergehalt bestimmt, wobei nur in den höchsten Dosen schwache, nirgends vollständige Lösung eintrat, so daß gebunden haben mußten in:

1)	die Blutkörperchen	5,	die Lösung	105	lösende Dosen,	zusammen	110
2)	„	10,	„	100	„	„	110
3)	„	25,	„	85	„	„	110
4)	„	50,	„	60	„	„	110
5)	„	100,	„	10	„	„	110

Es ist wohl kaum nötig, auf die in der Natur solcher Versuche liegenden und unvermeidlichen Ungenauigkeiten erst ausführlich hinzuweisen; sie sind aber keinesfalls so groß, daß sich nicht die Gesetzmäßigkeit erkennen ließe, nach welcher der hämolytische Immunkörper von den zugehörigen Blutkörperchen stets in einem unveränderlichen Verhältnisse gebunden wird. Mit anderen Worten: die in den Blutkörperchen enthaltenen Stoffe besitzen die Fähigkeit, stets eine bestimmte Menge von Immunkörpern zu binden, gleichgültig, ob die Zellen selbst noch intakt oder in spezifischer Weise gelöst sind.

Daraus ergibt sich sofort, daß die für den bloßen hämolytischen Akt anscheinend überflüssige Bindung von Immunkörpern die Bedeutung hat, daß sie die vollständige Reaktion zwischen dem Serum und den Stoffen der Blutkörperchen vorbereitet. Für diese vollständige Reaktion ist aber die

Zelllösung nur eine, nach dem geringen dafür nötigen Immunkörperverbrauch zu schließen, wahrscheinlich nur recht unbedeutende Teilreaktion; die Arbeit der Serumaktivität an Blutzellen besteht in Hämolyse + Methämolyse. Ueber die Natur der letzteren kann allerdings vorläufig nichts anderes als der damit verbundene Immunkörper und weiterhin Komplementverbrauch (wirklich oder nur scheinbar) ausgesagt werden, wozu noch die dürftigen, bereits in einer früheren Arbeit angeführten Ermittlungen kommen ¹⁾).

Zu bemerken bleibt für Versuche, wie die oben mitgeteilten noch, daß ihr Ausfall, insbesondere in bezug auf die Menge der absorbierten Immunkörper, in wesentlicher Weise von Nebenbedingungen abhängt, so z. B. von der Zeit, welche man den Erythrocytenstoffen zur Bindung von Immunkörpern läßt, der Temperatur, mit welcher man arbeitet u. dgl. Diese bei allen Reaktionen wichtigen Umstände würden sich leicht genauer präzisieren lassen.

Eine theoretisch leicht zu ziehende Schlußfolgerung aus den bisherigen Ermittlungen, wonach Blutkörperchen so viel Immunkörper binden können, wie zur Häm- und Methämolyse nötig ist, wäre die, daß die Lösung von Blutkörperchen, welche schon die maximale Immunkörpermenge aufgenommen haben, keine weiteren Immunkörper binden dürfe. Die Versuche bestätigten auch im ganzen diese Schlußfolgerung, doch stellte sich bald heraus, daß man dabei leicht an die Grenze der Versuchsmöglichkeiten überhaupt kommt.

XI. Es werden hergestellt:

- | | | |
|---------------------------|-------------------------|----------------------|
| 1) 0,1 ccm Schäfblutkörp. | + 0,03 ccm hämol. Serum | in 2 ccm Flüssigkeit |
| 2) 0,1 „ „ | + 0,3 „ „ | „ 2 „ „ |
| 3) 0,1 „ „ | + 0,6 „ „ | „ 2 „ „ |

Die Proben blieben 18 Stunden bei Zimmertemperatur und wurden dann zentrifugiert. Von den zur Bestimmung des rückgebliebenen Immunkörpers dienenden Abgüssen war der von 3) stark, der von 2) sehr deutlich rot gefärbt. Der Abguß von 1) löste mit 0,1 ccm Komplement 1 ccm 5-proz., nicht sensibilisiertes Blut in keiner Dosis, der von 2) in der Menge

1) Anmerkung zur Korrektur: Diese beziehen sich jedenfalls zum größten Teil, soweit sie sichtbar sind, auf eine Agglutination der Stromareste. Eine Erythropräzipitation (Klein) hat sich bisher dabei nicht ermitteln lassen.

von 0,2 ccm fast vollständig, der von 3) in der Dosis von 0,05 ccm noch vollständig, in der von 0,01 ccm eben noch deutlich. Danach waren noch vorhanden in

1)	kein Immunkörper von	30 lösenden Dosen,	absorbiert	30
2)	noch 10—15	300	„	ca. 290
3)	„ ca. 40—50	600	„	ca. 550

Die Blutsätze wurden sorgfältig gewaschen, wobei in 3) und teilweise auch in 2) immer ein rotes Waschwasser erhalten wurde. Dann wurde je 0,05 ccm Komplement zugesetzt und nach der in kürzester Zeit erfolgten Lösung zu 1—3 überall je 0,15 ccm hämolytischen Serums zugefügt. Nach 1-stündigem Aufenthalt bei 37° wurden die auf 2 ccm aufgefüllten Proben ohne Inaktivierung zur Bestimmung ihres Immunkörpergehaltes benützt. Es trat vollständige oder fast vollständige Lösung ein: bei 1) mit 0,1, bei 2) mit 0,04, bei 3) mit 0,02 ccm. Von den zugesetzten 150 lösenden Dosen waren somit in den Flüssigkeiten noch erhalten in:

1)	ungefähr 20,	daher absorbiert	ca. 130
2)	50,	„	ca. 100
3)	ziemlich alle,	„	wenig oder nichts

Der Versuch hatte also insofern wirklich das erwartete Resultat, als von Seite der Lösungen um so weniger Immunkörper gebunden worden war, je mehr davon ursprünglich zur Sensibilisierung der intakten Blutkörperchen verwendet worden war. Aber die Unmöglichkeit, einen solchen Versuch ganz einwandfrei durchzuführen, war auch klar hervorgetreten. Denn die mit übermäßigen Immunkörpermengen behandelten Zellen lösten sich von selbst in komplementfreier Flüssigkeit auf und wenn diese Lösung auch nur eine teilweise war, so ließ sich doch durch den bloßen Anblick feststellen, daß in 2) und 3) schließlich viel weniger Blut übrig blieb als in 1. Natürlich war dann durch das Waschen und Zentrifugieren auch ein Teil der gelösten Zellsubstanz für den Versuch in Verlust gegangen, so daß ganz unkontrollierbare Veränderungen in der Zusammensetzung der 3 Vergleichsproben entstanden waren. Die gleiche Schwierigkeit ergab sich auch in den späteren Versuchen dieser Art. Man ist geneigt, in dieser spontanen Lösung der übersensibilisierten Blutkörperchen eine Folge der Schädigung zu sehen, welche sie durch die unter solchen Umständen einsetzende starke Zusammenballung erleiden, und in der Tat findet eine solche regelmäßig statt und das Aussehen derartiger Blutkörperchen im abzentrifugierten Satze ist ein eigentümlich gallertiges, leimartiges und erinnert

etwas an den Satz von Stromata, die man durch Wasserlösung von Blut nach Salzzusatz und Zentrifugieren erhält. Verfasser sind aber geneigt, in dieser nur durch übermäßigen Immunkörperzusatz erzielten Blutkörperchenlösung ein anders zu erklärendes und dann sehr wichtiges Phänomen zu erblicken.

Bei Gelegenheit der Studien über die bakteriolytische Serumaktivität ergab sich der Schluß, daß dieselbe auf der Neuentstehung einer Verbindung aus der Bakteriensubstanz und dem stofflichen Substrate des Serumimmunkörpers beruhe. Diese beiden Substanzen haben an sich nur ein sehr geringes Vereinigungsbestreben, so daß normalerweise die Gegenwart eines Katalysators, des Komplementes, zum Zustandekommen der wirklichen Verbindung erforderlich ist. Ist aber die Konzentration des Immunkörpers eine sehr hohe, wie bei den erwähnten hämolytischen Versuchen, so ist es sehr wohl denkbar, daß bis zu einem gewissen Grade schon ohne Komplement die neue Verbindung entsteht, womit das Erhaltenbleiben der Zelle unvereinbar ist und als erster Akt die, wenn auch nur teilweise, Hämolyse eintreten muß.

Noch eine weitere Besonderheit bietet Schwierigkeiten für die Versuche, welche die bekannte Eigentümlichkeit zeigen, daß Blutkörperchen je nach der Konzentration des zugesetzten Immunkörpers verschieden binden (Massengesetz). So vermögen die Blutkörperchen des XI. Versuches zwar ca. 550 lösende Dosen zu binden, wenn 600 zugesetzt werden, binden aber bei Zusatz von 300 nur 290. Dieser mit abnehmender Konzentration nicht mehr zur Sensibilisierung gelangende Immunkörper erlaubt eine genaue Bestimmung der von einem gewissen Blutquantum überhaupt aufnehmbaren Immunkörpermenge nicht. Immerhin ließ sich als konstantes Ergebnis ermitteln, daß die Lösung übermäßig sensibilisierter Blutkörperchen schließlich kein Bindungsvermögen für neuen Immunkörper mehr hat.

XII. Es wurden hergestellt:

- | | | | |
|----|--------------------------|-------------------------|----------------------|
| 1) | 0,1 ccm Schafblutkörper. | + 0,01 ccm hämol. Serum | in 2 ccm Flüssigkeit |
| 2) | 0,1 " | + 0,2 " | " 2 " |
| 3) | 0,1 " | + 0,6 " | " 2 " |

Die Proben bleiben über Nacht bei Zimmertemperatur, werden dann zentrifugiert und die Abgüsse, von denen die von 2 und 3 rot sind, zur

Die Blutkörperchensätze wurden gewaschen, mit 0,25 ccm Komplement gelöst und $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° belassen; dabei trat in der anfangs klaren Lösung 2) und 3) deutliche Trübung ein. Jeder Probe wurde dann je 0,05 ccm hämolytischen Serums zugesetzt; nach 1-stündigem Aufenthalt bei 37° erfolgte die Inaktivierung ($\frac{1}{2}$ Stunde 56°), worauf dann der Immunkörpergehalt in gewöhnlicher Weise bestimmt wurde. Es enthielt von den auf 0,2 ccm aufgefüllten Proben 1) keine ganze lösende Dosis mehr, in 2) waren noch etwas mehr als 10, in 3) die ganzen 50 lösenden Dosen enthalten. Somit hatten die Lösungen der Blutkörperchen 1—3 von 50 lösenden Immunkörperdosen 50, ca. 40 und 0 gebunden.

1)	0,1	ccm Schafblutkörper.	+ 0,01	ccm hämol. Serum	in 2	ccm Flüssigkeit
2)	0,1	"	+ 0,1	"	"	"
3)	0,1	"	+ 0,25	"	"	"

1)	0,1 ccm Schafblutkörper.	+ 0,03 ccm hämol. Serum	in 2 ccm Flüssigkeit
2)	0,1 "	+ 0,5 "	" " " 2 "
3)	0,1 "	+ 0,8 "	" " " 2 "

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Man sieht sofort, daß in rein quantitativer Hinsicht sehr bedeutende Differenzen auftreten, besonders auffällig im Versuch XIV, wo die Blutkörperchen von 0,1 ccm Schafblut nicht weniger als 500 lösende Dosen des Immunkörpers wegschafften, was ein ungewöhnlich hohes Bindungsvermögen der Zellen beweist, das sonst nicht auftrat; im Zusammenhang damit steht die noch deutlich hervortretende Absorptionsfähigkeit der Lösung für Immunkörper, die erst nach Sensibilisierung mit 760 lösenden Dosen aufhört. In allen Versuchen tritt ganz klar hervor, daß durch primäre Uebersättigung der Blutkörperchen mit Immunkörpern das Lösungsprodukt seine Bindungskraft einbüßt, daß unter diesen Umständen also die Zellstoffe sozusagen abgesättigt werden. Sonst verbraucht die Lösung selbst Immunkörper zur Methämolyse.

Zusammenfassung.

Eine spezifisch hergestellte Lösung von sensibilisierten Blutkörperchen ist imstande, noch große Mengen von hämolytischen Immunkörpern zu binden, ähnlich, wie bereits sensibilisierte, aber noch intakte Blutkörperchen dies tun. Die Hämolyse führt daher nicht zum Endprodukt der zwischen Blutkörperchen und Serum möglichen Reaktionen, sondern sie stellt nur eine Art Vorbereitung oder eine Begleitung der an den Substanzen der Blutkörperchen sich abspielenden Reaktionen dar, welche als methämolytisch bezeichnet werden können. Die übermäßige, zur Hämolyse nicht notwendige Bindung hämolytischer Immunkörper durch Blutkörperchen erklärt sich durch die der Hämolyse folgende Methämolyse.

[Aus dem Royal Institute of Public Health, London
(Prof. William R. Smith).]

Von

Dr. R. Trommsdorff und Dr. L. Rajchman
früherem jetzigem
Leiter der bakteriologischen Abteilung.

Die Frage der Differenzierung der Enteritidis- und Paratyphus-B-Bakterien steht seit Jahren zur Diskussion, aber sie harrt noch immer ihrer Lösung. Sie ist im allgemeinen noch durchaus im selben Sinne zu beantworten, wie auf Grund eingehender Agglutinationsprüfungen, die durch den einen von uns [Trommsdorff¹⁾] im Anschluß an im Jahre 1903 gemachte Beobachtungen von Pathogenität des Mäusetyphusbacillus beim Menschen, in der Gruppe des „Mäusetyphusbacillus und seiner Verwandten“ ausgeführt wurden, daß nämlich die beiden im Titel genannten Bakterienarten entschieden voneinander zu trennen sind, daß aber die Agglutinationsprüfung eine **große Unsicherheit** in der Diagnose bietet.

Dies durch ein interessantes Beispiel aus der Praxis von neuem zu belegen, ist der Zweck vorliegender Mitteilung.

Es handelte sich in kurzem um folgendes:

Anfang August vergangenen Jahres ereignete sich in Wrexham eine schwere Nahrungsmittelvergiftung (über 100 Erkrankte, 6 Tote), als deren Ursache mit Sicherheit Schweinefleischpasteten, die aus einem Geschäft stammten, zu ermitteln waren. Die von uns in Gemeinschaft mit Dr. A. E. Porter ausgeführten Untersuchungen²⁾ ergaben folgendes:

1) Arch. f. Hyg., Bd. 55, 1906, p. 279.

2) Der ausführliche Bericht über diese Vergiftungsepidemie wird demnächst — durch äußere Umstände verzögert — erscheinen (jedenfalls im Journ. of Hyg.). Einen kurzen Report siehe Journ. of the Roy. Inst. of Publ. Health, 1910, No. 12 (Dec.).

Es gelang der Nachweis:

1) von massenhaft vorhandenen Bakterien der Paratyphus-B-Enteritidisgruppe durch direkte Kultur und durch Tierversuche in

a) 2 Proben der verdächtigten Pasteten (sogenannte „Pie I“ und „Pie II“),

b) den Faeces, Organen und Herzblut einer Verstorbenen (in letzteren dieser Materialien in Reinkultur);

2) einer hohen spezifischen Agglutinationskraft der Blutsera

a) von Erkrankten, die von den Pasteten gegessen hatten,

b) von Personen, die die zuvor erwähnte Gestorbene gepflegt hatten, unter demselben Bild, wie diese erkrankt waren, und deren eine sogar auch starb (Kontaktinfektionen);

3) der Anwesenheit einer gesunden Bacillenträgerin unter dem Herstellungspersonal der Pasteten, auf die — da andere Infektionsquellen nach den angestellten Nachforschungen und auf Grund negativer Ergebnisse spezieller Untersuchungen mit größter Wahrscheinlichkeit (ein Ursprung des verwendeten Fleisches von kranken Tieren mit Sicherheit) auszuschließen waren — die Infektion der Pasteten zurückzuführen war. (Hierfür sprach auch noch insbesondere das Auffinden einer interessanten Bakterienart in Reinkultur in dem Urin der Bacillenträgerin, sowie derselben Bakterien in dem „Pie I“, so daß die betreffende Frau scheinbar ihre ganze „spezifische Flora“ übertragen hatte [s. den ausführlichen Bericht l. c.])

Wie aber die gefundenen, kulturell¹⁾ sich durchaus typisch, wie die in Frage stehende Bakteriengruppe verhaltenden Bakterien zu benennen waren, das war eine keineswegs leicht zu beantwortende Frage.

Bei den oben sub 2 angeführten Prüfungen konnte aus äußeren Umständen nur bei den Untersuchungen sub a (Patientensera) gleichzeitig ein Paratyphus-B- und ein Enteritidisstamm herangezogen werden, deren Ergebnisse aber keine definitiven Schlüsse über die Natur der infizierenden Bakterien

1) Betreffs genauerer Angaben siehe die ausführliche Veröffentlichung (l. c.).

zuließen, wenn auch der eine Wert (Serum No. 2 gegen Stamm Paratyphus B Praußnitz) für eine Infektion durch Paratyphus-bacillen sprach. Die Ergebnisse dieser Prüfungen siehe in folgender Zusammenstellung:

Tabelle A.

Bacillus	Serumproben von Erkrankten, die Pork-Pie gegessen hatten					Serumproben von angeblich auch Er- krankten, die aber Mutton- Pie gegessen hatten (Kontrollen)		
	Serum-No.	1	2	3	4	5	6	7
Journal-No.	328	329	331	332	330	369	371	373
Paratyphus B ¹⁾ Prauñnitz	1:320 +	1:1280 +	1:160 +	1:320 +	1:80 +	+	+	+
Enteritidis Prauñnitz	1:40 +	1:160 +	1:160 +	1:320 +	1:80 +			
Paratyphus A	1:40 +	1:40 +	1:40 +	1:160 +	1:40 +			
Pastetenvergiftungs- epidemie ²⁾								
Stamm No. 1						+	+	+
„ „ 5	1:2500 +	1:1280 +	1:160 +	1:320 +	1:80 +	+	+	+
„ „ 11		1:1280 +	1:160 +	1:320 +	1:80 +			
„ „ 17						+	+	+

1) Für freundliche Ueberlassung von Bakterienkulturen sind wir zu lebhaftem Dank verpflichtet den Herren Dr. Distaso (Institut Pasteur, Paris), Dr. Praußnitz (Metrop. Asylums Board, London), Geh.-Rat Uhlenhuth (Kaiserl. Gesundheitsamt, Groß-Lichterfelde).

2) Die spezielle Herkunft der verschiedenen von uns isolierten Stämme der Pastetenvergiftungsepidemie war folgende:

Stamm No.	1	aus „Pie I“ direkt		
" "	3	„ Meerschweinchen 1 Herzblut	} Tiere infiziert mit „Pie I“	
" "	5	" " 2 "		
" "	4	" Maus 1 "		
" "	7	" " 2 "		
" "	8	" " 3 "		
" "	9 A	„Pie II“ direkt		
" "	9 B	" " " "		
" "	11	„ Meerschweinchen 1 Herzblut	} Tiere infiziert mit „Pie II“	
" "	12 A	" " 2 "		
" "	12 B	" " 3 "		
" "	19	" " 4 "		
" "	17	Herzblut einer Verstorbenen		
" "	21	Leber " "		

Zur Identifizierung der von uns aus den oben sub 1 genannten Materialien (verdächtige Pasteten, Faeces, Blut und Organe einer Gestorbenen) gezüchteten Stämme stand uns zunächst nur ein „Enteritidis“-Serum zur Verfügung, das wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Ledingham (Lister Institute of Preventive Medicine, London) verdanken. Die mit diesem Serum erhaltenen Werte zeigt die folgende Tabelle I.

Tabelle I¹⁾.
„Enteritidis“-Serum (Dr. Ledingham).

Bacillus	Serumverdünnung							
	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2500	1:5000
Enteritidis Praußnitz	+	+	+	+	+	+		
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	±			
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+	
„ Paris	+	+	+	+	+	+	+	±
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	±			
Pastetenvergiftungs-epi- demie Stamm No. 1	+	+	+	+	+			
„ „ 3	±							
„ „ 4	+	+	+	+	+	±		
„ „ 5	+	+	+	+				
„ „ 7	+							
„ „ 8	±							
„ „ 9 A	+	+	+					
„ „ 9 B	+	+						
„ „ 11	+	+						
„ „ 12 A	+							
„ „ 12 B	+	+	+	+	+			
„ „ 17	+	+	±					
„ „ 19	+	+	+	+	+			
„ „ 21	+	+	+	+	±			

Das Serum differenzierte demnach die in unsern Händen befindlichen „typischen“ — und wie wir glauben, nur durchaus mit Recht als solche bezeichneten — Enteritidis- bzw. Paratyphus-B-Stämme nicht. Es agglutinierte, im Gegensatz zu den Erwartungen, sogar die Paratyphus-Stämme stärker, als die

1) Die Beobachtung aller Agglutinationen geschah selbstverständlich durchgehends nach gleicher Methodik (Blockschälchen, 24-stünd. Bouillonkulturen, 2 Stunden 37°, Lupenvergrößerung). Viele Prüfungen wurden doppelt durchgeführt.

Enteritidis-Stämme. Ein Schluß für die Natur unserer gelegentlich der Pastetenvergiftungsepidemie gezüchteten Stämme war daher nicht zu ziehen.

Die Agglutinationswerte dieses Serums gegenüber unseren Pastetenvergiftungsepidemiestämmen waren sehr wechselnd: einige der Stämme wurden durch dasselbe überhaupt nicht agglutiniert (No. 3, 8), andere schwach, einige (No. 1, 4, 12 B, 19, 21) bis zu dem ungefähren Titer der Enteritidis-Stämme.

Mittlerweile hatten wir mit den uns von Herrn Dr. Praußnitz überlassenen Stämmen „Enteritidis“ und „Paratyphus B“ Kaninchen immunisiert¹⁾ und so weitere Sera zur Prüfung unserer fraglichen Kulturen gewonnen. Die Wirkung dieser Sera ist aus den folgenden Tabellen II und III zu ersehen.

Tabelle II.
„Enteritidis“ (Stamm Praußnitz)-Serum.

Bacillus	Serumverdünnung									
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25000	1:50000
Enteritidis Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Paratyphus B Praußnitz	⊖									
„ Paris	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Uhlenhuth	⊖									
Pastetenvergiftungsepidemie										
Stamm No. 1	+									
„ „ 3	+	±								
„ „ 4	+	+	+	+	+	+				
„ „ 5	+	+								
„ „ 7	+	+	±							
„ „ 8	+	+								
„ „ 9 A	+									
„ „ 9 B	⊖									
„ „ 11	+	±								
„ „ 12 A	+	±								
„ „ 12 B	+	+	+	+	+					
„ „ 17	+	±								
„ „ 19	⊖									
„ „ 21	+	+	+	+	+	+	+	±		

1) Alle von uns vorgenommenen Immunisierungen geschahen bei Kaninchen durch intravenöse Injektion $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° erhitzter 24-stünd. Agarabschwemmungen.

Tabelle III.

„Paratyphus-B“ (Stamm Praußnitz)-Serum.

Bacillus	Serumverdünnung									
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25000	1:50000
Enteritidis Praußnitz	+									
„ Uhlenhuth	+									
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ Paris	+	+	+	+	+	+	+	+	±	
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Pastetenvergiftungsepidemie										
Stamm No. 1	+	+	+	+						
„ „ 3	+	+	+	±						
„ „ 4	+	+	+	+	±					
„ „ 5	+	+	+	+	±					
„ „ 7	+	+	+	+						
„ „ 8	+	+	+	+						
„ „ 9A	+	+	+	+						
„ „ 9B	+	+	+	+						
„ „ 11	+	+	+	+	±					
„ „ 12A	+	+	+	+	±					
„ „ 12B	+	+	+	+	±					
„ „ 17	+	+	+	+						
„ „ 19	+	+	+	+						
„ „ 21	+	+	+	+	+	+	+	+		

Die Resultate dieser Tabellen seien gemeinsam besprochen:

Zunächst zur Wirkung des mit dem Stamm „Enteritidis“ Praußnitz hergestellten Serums:

Auch dieses war, wie das von Herrn Dr. Ledingham erhaltene Serum (s. Tab. I), nicht differenzierend wirksam. Zwar wirkte es gegen die beiden in unseren Händen befindlichen „Enteritidis“-Stämme sehr stark und gegen 2 der in unseren Händen befindlichen „Paratyphus-B“-Stämme überhaupt nicht. Aber der 3. „Paratyphus-B“-Stamm wurde genau wie der antigene „Enteritidis“-Stamm des Serums bis zur Titergrenze agglutiniert.

Anders das mit dem Stamme „Paratyphus B“ Praußnitz erhaltene Serum.

Dieses war — wenigstens den 5 in unseren Händen befindlichen Enteritidis- und Paratyphus-B-Stämmen gegenüber — streng spezifisch; es agglutinierte nur die Paratyphus-B-Stämme und diese durchgehends fast bis zur Titergrenze.

Trotzdem ließ aber auch dieses — hochwertige — Serum eine Entscheidung der Natur der von uns isolierten Stämme der Pastetenvergiftungs-epidemie nicht zu. Seine Wirkung erstreckte sich nämlich sämtlichen von uns isolierten Stämmen gegenüber nur bis zu einer gewissen Höhe; einzig Stamm 21 wurde relativ hoch agglutiniert; dieser Stamm wurde aber auch durch das „Enteritidis“-Serum, das seinerseits sonst unseren fraglichen Stämmen gegenüber etwa wie das Enteritidis-Ledingham-Serum wirkte, ebenfalls stark agglutiniert.

Immerhin aber sprechen die mit diesen beiden Seris erhaltenen Werte stark für Paratyphus B bei unseren Epidemiebakterien.

(Betreffend der relativen Agglutinabilität unserer Stämme zeigten sich keine durchgehenden Gesetzmäßigkeiten [s. auch die übrigen Tabellen]: Stämme, die von dem einen Serum gut agglutiniert wurden, wurden vom anderen nicht beeinflußt und umgekehrt; auch die Herkunft der Stämme ließ keinen gesetzmäßigen Einfluß auf die Agglutinabilität erkennen.)

Die nächsten Seren, die uns zur Entscheidung unserer Frage zur Verfügung standen, waren je ein „Enteritidis-“ und „Paratyphus-B“-Serum, die wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Lentz (Institut für Infektionskrankheiten, Berlin) verdanken. Ihre Wirksamkeit zeigen die folgenden Tabellen IV und V, deren Ergebnisse wieder zusammen besprochen seien.

Tabelle IV.
„Enteritidis“-Serum (Prof. Lentz).

Bacillus	Serumverdünnung						
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Enteritidis Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	±	
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	
„ Paris	+	+	+	+			
„ Uhlenhuth	+	+	+	±			

5*

Bacillus	Serumverdünnung						
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Pastetenvergiftungsepidemie							
Stamm No. 1	+	+	+	+	+	+	
" " 3	+	+	±	+	+		
" " 4	+	+	+	+	+		
" " 5	+	+	+	+	±		
" " 7	+	+	+	+	+		
" " 8	+	+	±	+	+		
" " 9A	+	+	+	+	+	+	
" " 9B	+	+	+	+	+		
" " 11	+	+	+				
" " 12A	+	+					
" " 12B	+	+	+	+	+		
" " 17	+	+	+	+	+	±	
" " 19	+	+	+				
" " 21	+	+	+	+	+	+	±

Tabelle V.

„Paratyphus-B“-Serum (Prof. Lentz).

Bacillus	Serumverdünnung						
	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2500	1:5000
Enteritidis Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+
" Uhlenhuth	+						
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+
" Paris	+	+	+	+	+	+	+
" Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	+
Pastetenvergiftungsepidemie							
Stamm No. 1	+	+	+	+	+	+	+
" " 3	+	+	+	+	+	+	+
" " 4	+	+	+	+	±		
" " 5	+	+	+	+	+	+	+
" " 7	+	+	+	+	+	+	+
" " 8	+	+	+	+	+	+	+
" " 9A	+	+	+	+	+	+	+
" " 9B	+	+	+	+	+	+	+
" " 11	+	+	+	+	+	+	+
" " 12A	+	+	+	+	+	+	+
" " 12B	+	+	+	+	+	±	
" " 17	+	+	+	+	+	+	+
" " 19	+	+	+	+	+	+	+
" " 21	+	+	+	+	+	+	+

Von beiden Seris ist zunächst zu konstatieren,
daß sie unsere 5 Enteritidis- und Paratyphus-B-

Stammkulturen nicht differenzierten. So beeinflusste das „Enteritidis“-Serum den Paratyphus-B-Stamm Praußnitz etwas stärker als den Enteritidisstamm Uhlenhuth, das Paratyphus-B-Serum agglutinierte den Enteritidisstamm Praußnitz ebenfalls bis zur Titerhöhe.

Immerhin sprechen aber auch hier die Resultate unsern Pastetenvergiftungsepidemiokulturen gegenüber — wenn auch natürlich nicht entscheidend — für Paratyphus B: das „Paratyphus-B“-Serum agglutinierte fast alle Stämme bis zur Titerhöhe, das „Enteritidis“-Serum keinen einzigen absolut bis zum Titer, immerhin aber eine Reihe der Stämme sehr stark.

Endlich hatte Herr Geheimrat Uhlenhuth (Kaiserliches Gesundheitsamt Groß-Lichterfelde) die Liebenswürdigkeit, uns je eine Probe „Enteritidis“- und „Paratyphus-B“-Serum zu überlassen. Die Resultate der betreffenden Agglutinationen zeigen die folgenden Tabellen VI und VII.

Tabelle VI.
„Enteritidis“-Serum (Geh.-Rat Uhlenhuth).

Bacillus	Serumverdünnung					
	1:125	1:250	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Enteritidis Praußnitz	+	+	+			
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+
Paratyphus B Praußnitz	+					
„ Paris	+					
„ Uhlenhuth	+					
Pastetenvergiftungsepidemie						
Stamm No. 1	+					
„ „ 3	+					
„ „ 4	+					
„ „ 5	+					
„ „ 7	+	+	+			
„ „ 8	+	+				
„ „ 9A	+					
„ „ 9B	+					
„ „ 11	+					
„ „ 12A	+					
„ „ 12B	+					
„ „ 17	+					
„ „ 19	+					
„ „ 21	+					

Tabelle VII.

„Paratyphus-B“-Serum (Geh.-Rat Uhlenhuth).

Bacillus	Serumverdünnung						
	1:125	1:250	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Enteritidis Praußnitz	+	+	+	±	±		
„ Uhlenhuth	+	+					
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+
„ Paris	+	+	+	+	+	+	+
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	+
Pastetenvergiftungsepidemie							
Stamm No. 1	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 3	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 4	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 5	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 7	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 8	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 9A	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 9B	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 11	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 12A	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 12B	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 17	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 19	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 21	+	+	+	+	+	+	+

Beide Sera wirkten demnach fast rein, den 5 signierten Stämmen gegenüber, entsprechend ihrer Signatur. Das „Enteritidis“-Serum wirkte den Paratyphusstämmen gegenüber durchaus nur mitagglutinierend. Allerdings differenzierte es nicht sicher den Stamm Enteritidis Praußnitz; das „Paratyphus-B“-Serum identifizierte alle Paratyphus-B-Stämme und zeigte den Enteritidis-Stämmen gegenüber nur Mitagglutinationswirkung.

Die unsern Stämmen gegenüber auftretende Wirkung dieser beiden Sera durften wir daher diagnostisch verwerten. Sie sprach entscheidend und eindeutig für Paratyphus B: allen Pastetenvergiftungsepidemiestämmen gegenüber glatte Wirkung des „Paratyphus-B“-Serums bis zur Titergrenze, und umgekehrt bei fast allen eine nur geringe oder bei einigen nur relativ geringe

— aber entschieden als Mitagglutination zu deutende — Wirkung des „Enteritidis“-Serums.

Die von uns gelegentlich der Pastetenvergiftungsepidemie isolierten Stämme waren also Paratyphus-B-Stämme.

Das erhaltene Resultat fand seine Bestätigung durch weitere Agglutinationsprüfungen, die wir mittlerweile vorbereitet hatten, nämlich durch Prüfungen mit Seris, die unter Benutzung von uns isolierter Stämmen als Antigene hergestellt waren, und zwar mit einem aus einer der Pasteten und mit dem aus dem menschlichen Herzblut isolierten Stamme. Die folgenden Tabellen VIII und IX zeigen die betreffenden Werte.

Tabelle VIII.
Serum Stamm 1.

Bacillus	Serumverdünnung						
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Enteritidis Praußnitz	+						
„ Uhlenhuth	+						
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	
„ Paris	+	+	+	+	+	+	
„ Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	
Pastetenvergiftungsepidemie							
Stamm No. 1	+	+	+	+	+	+	+
„ „ 3	+	+	+	+	+	+	
„ „ 4	+	+	+	+	+	+	
„ „ 5	+	+	+	+	+	+	
„ „ 7	+	+	+	+	+	+	
„ „ 8	+	+	+	+	+	+	
„ „ 9A	+	+	+	+	+	+	
„ „ 9B	+	+	+	+	+	+	
„ „ 11	+	+	+	+	+	+	
„ „ 12A	+	+	+	+	+	+	
„ „ 12B	+	+	+	+	+	+	
„ „ 17	+	+	+	+	+	+	
„ „ 19	+	+	+	+	+	+	
„ „ 21	+	+	+	+	+	+	

Tabelle IX.
Serum Stamm 17.

Bacillus	Serumverdünnung							
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
Enteritidis Praußnitz	0							
" Uhlenhuth	±							
Paratyphus B Praußnitz	+	+	+	+	+	+	+	
" Paris	+	+	+	+	+	+	+	
" Uhlenhuth	+	+	+	+	+	+	+	
Pastetenvergiftungsepidemie								
Stamm No. 1	+	+	+	+	+	+		
" " 9A	+	+	+	+	+	+	+	
" " 11	+	+	+	+	+	+	+	+
" " 17	+	+	+	+	+	+	+	+

Beide Sera wirkten unsern 5 Enteritidis- bzw. Paratyphus-B-Stammkulturen gegenüber also durchaus spezifisch. Sie agglutinierten nur die Paratyphus-B-Stämme; außerdem wirkten sie durchaus gleichartig gegen die von uns gelegentlich der Pastetenvergiftungsepidemie isolierten Stämme. (Bei Serum Stamm 17 konnten aus äußeren Gründen nur einige geprüft werden.)

Erwähnt sei weiter, daß auch Toxizitätsprüfungen der von uns isolierten Kulturen für deren Paratyphus-B-Natur sprachen. Abgetötete Kulturen töteten in relativ kleinen Dosen ($\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ Agaröse) bei intravenöser Injektion Kaninchen¹⁾. Weitere Mitteilungen hierüber vorbehalten.

Absättigungsversuche nach Castellani gaben keine befriedigenden Resultate. Doch verzichten wir vorläufig auf die Wiedergabe unseres diesbezüglichen Materials, da dasselbe bisher nicht genügend ist, um kritische Schlüsse für den Wert dieser Methode zur Differenzierung der in Frage stehenden Bakterien zuzulassen.

Endlich seien noch einige Daten wiedergegeben, die sich auf die Differenzierung des Bacillenträgerstammes beziehen.

1) Vergl. hierzu die Arbeit von Yamanouchi, Compt. rend. Soc. Biol., 1909.

Dieser erwies sich nach Isolierung zunächst als nicht agglutinabel, erlangte aber bei weiterer Fortführung zunehmende Agglutinabilität, die nach einigen Wochen folgende Werte zeigte (Tabelle α).

Tabelle α .

Agglutination des zuerst inagglutinablen Bacillenträgerstammes nach einigen Wochen durch:

Serum		Serumtiter
„Enteritidis“ Ledingham	\emptyset	5000
„ „ Lentz	\emptyset	6000
„ „ Praußnitz	1:100 + 1:200 \pm	50 000
„ „ Uhlenhuth	1:125 +	4000
„Paratyphus B“ Stamm Praußnitz	1:1600 + 1:3200 \pm	50 000
„ „ „ Lentz	\emptyset	5000
„ „ „ Uhlenhuth	1:800 + 1:3200 (+)	8000
Pastetenvergiftungsepidemie Stamm 1	\emptyset	6400

Es ist interessant, daß sich die Agglutinabilität nicht gegenüber allen Seris gleichzeitig eingestellt hat.

Ebenso interessant ist die Wirkung des mit diesem Stamm als Antigen erzeugten Serums, die aus der folgenden Tabelle β zu ersehen ist.

Tabelle β .

Serum Stamm 27 (Bacillenträgerstamm).

Bacillus	
Paratyphus B Uhlenhuth	1:25 000 +
„ „ Praußnitz	\emptyset
„ „ Paris	\emptyset
Pastetenvergiftungsepidemie Stamm 1	1:400 +
„ „ „ 17	1:1600 + 1:3200 +
Bacillenträgerstamm 27	1:25 000 +

Das erzeugte hochwertige Serum wirkte also nur — abgesehen von der relativ geringen Wirkung gegenüber den Stämmen 1 und 17 — gegen den eigenen Stamm und gegen eine unserer Paratyphus-B-Stammkulturen; die beiden anderen, sonst durchaus gut agglutinablen Paratyphus-B-Stämme wurden nicht durch dasselbe beeinflusst.

Dies unser Material. Wir geben es, wie einleitend gesagt, im Sinne eines glänzenden Beispiels aus der Praxis. Wir

wollen dasselbe daher nicht noch des weiteren eingehender, als im Texte geschehen, diskutieren und auch nicht all die ja viel erörterten Fragen des Gebiets (insbesondere die Frage der „Zwischenformen“) ¹⁾. Denn leider haben ja auch unsere Prüfungen eine Lösung derselben nicht gebracht.

Im Gegenteil: pessimistischer als zuvor sehen wir für die Praxis die Frage der Spezifität von Enteritidis- und Paratyphus-B-Seris.

Gewiß: aus vorliegendem: Das Uhlenhuthsche Paratyphus-B-Serum, unsere eigenen Paratyphus-B-Sera Stamm Praußnitz, Stamm 1, Stamm 17 scheinen spezifisch. Aber beziehen sich die Prüfungen nicht auch nur auf doch relativ wenig Stämme? Hat nicht auch das Uhlenhuthsche Enteritidisserum schon dem einen von nur zwei Enteritidisstämmen gegenüber versagt? — Und dann gar die merkwürdigen Wirkungen des Serums Stamm 27! — Es gibt eben in bezug auf Tierindividualität, Agglutinin-Bildungs- und -Bindungszusammenhang noch Rätsel genug!

Zusammenfassung.

Die von dem einen von uns (Trommsdorff) schon vor Jahren betonte Unsicherheit der Agglutination als diagnostische Methode zur Unterscheidung von Paratyphus-B- und Enteritidis-Bakterien wird durch ein glänzendes Beispiel aus der Praxis erwiesen. — Es dürfte jedoch weiter an einer Differenzierung der beiden Bakterien festzuhalten sein. — Die Frage des Vorkommens von „Zwischenformen“ wird hierdurch natürlich nicht berührt.

1) Betreffs der Literatur verweisen wir wesentlich auf Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen, ihre Entstehung und Verhütung (Jena, Gustav Fischer, 1910), auf die sehr umfangreichen Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910, H. 2/3, p. 401—512; Bd. 7, H. 3, p. 342—352) und die diesjährigen Verhandlungen der „Freien Vereinigung f. Mikrobiologie“ (Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47, 1910, Beiheft); von kleineren Beiträgen seien die von Jacobitz und Kayser (Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 53, 1910, p. 377) als besonders interessant hervorgehoben.

Nachdruck verboten.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institute in Osaka;
Vorstand: Prof. A. Sata.]

Ueber die Wirkung einiger lipoider Stoffe auf die invisiblen Virusarten.

Von Prof. Y. Fukuhara,
Abteilungsvorsteher des Instituts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Januar 1911.)

Alnagia¹⁾ schreibt dem Cholesterin das Vermögen zu, in vitro Lyssavirus vollständig zu neutralisieren. Repetto²⁾ bestätigte die von Fermi³⁾ und Marie⁴⁾ erhaltenen Resultate und spricht dem Cholesterin lyssizides Vermögen ab. Die von mir vor einigen Jahren in dieser Beziehung vorgenommenen Untersuchungen stimmten überein mit dem Resultate von Repetto. Es erschien auch nicht weniger interessant, zu untersuchen, welche Einwirkung diese Substanzen auf die anderen zu den sogenannten invisiblen Virusarten gezählten Krankheitserreger ausüben. Da Versuche nach dieser Richtung niemals angestellt worden sind, nahm ich nun mir vor, sie mit Seife, Oelsäure und einigen bakteriellen Lipoiden anzustellen.

Versuch.

Die Emulsion von Virus fixe bzw. Hühnerpestvirus (1:10) wurde durch Papier filtriert. Die käufliche Vaccine wurde im Verhältnis 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnt. Die so vorbereiteten Virusverdünnungen wurden mit gewissen Mengen lipoider Substanzen vermengt. Das Gemisch wurde 20 Stunden lang bei Zimmertemperatur (ca. 15° C) gehalten und dann subdural (bei Lyssa), corneal (bei Vaccine) oder intramuskulär (bei Hühnerpest) auf Tiere geimpft.

			Resultate
0,5 Oleinsäure	} + 0,2 Virus fixe	2 Kaninchen	leben
0,1 „		2 „	Lyssa
0,05 „		2 „	„

- 1) R. Roll, Acad. med., Roma, Bd. 34, Heft 4.
- 2) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Referat, Bd. 1, p. 433.
- 3) Ibidem, Bd. 1, p. 78.
- 4) Compt. rend. Acad. Science, T. 149.

				Resultate
0,5 Oleänsäure	{	+ 0,2 Hühner- pestgehirn	Huhn	lebt
0,1 "			"	tot nach 2 Tagen
0,05 "			"	dgl.
0,5 "	{	+ 0,2 Vaccine	Corneal	negativ
0,1 "			"	Trübung n. 4 Tgn.
0,05 "			"	dgl.

Schlußfolgerung: Die Oelsäure hätte somit alle Virusarten inaktiviert.

Oleinsaures Natrium.

				Resultate
0,5 Oleins. Natr.	{	+ 0,2 Virus fixe	je 2 Kaninchen	Lyssa, †
0,1 (1:20)				
0,05 dgl.				
0,5 "	{	+ 0,2 Hühner- pestvirus	je 1 Hahn	tot nach 2 Tagen
0,1 "				
0,05 "				
0,5 "	{	+ 0,5 Vaccine- virus	je 1 Kaninchen	corneale Verände- rung nach 2 Tgn.
0,1 "				
0,05 "				

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Seife alle Virusarten nicht neutralisiert. Die Behandlung mit Kaliumseife fiel auch negativ aus.

Lecithin (Agfa).

				Resultate
0,5 Lec.-Em. (1:10)	{	+ 0,2 Virus fixe	2 Kaninchen	leben
0,1 dgl.			2 "	Lyssa, †
0,05 "			2 "	
0,5 "	{	+ 0,2 Hühner- pestvirus	je 1 Huhn	tot nach 2 Tagen
0,1 "				
0,5 "	{	+ 0,2 Vaccine- virus	je 1 Kaninchen	positiv
0,1 "				

Schlußfolgerung: Lecithin hat also nur eine schädliche Wirkung auf Lyssavirus entfaltet.

Colibacillenlipoide.

Die Lipoide wurden in folgender Weise hergestellt:

1 Flasche Agarkultur wurde mit 10 ccm dest. Wasser suspendiert und absoluter Alkohol von 10-fachem Volumen dazu gesetzt, 2 Tage lang bei 40—50° C extrahiert. Nach dem Filtrieren durch Papier wurde das Filtrat abgedampft und der Rückstand nochmals mit absolutem Alkohol behandelt. Der letzte Rückstand wurde mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert.

Resultate		
0,5 Colilipoide 0,1 „	} + 0,2 Virus fixe	Lyssa, †
0,5 „ 0,1 „		alle Hühner starben nach 2 Tagen
0,5 „ 0,1 „	} + 0,2 Vaccine- virus	alle Kaninchen zeigen Corneaveränderung

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Colilipoide keine Wirkung entfalten.

Pyocyanaselipoide.

Der Lingnerschen Pyocyanaase wurde im Verhältnis 1:10 chemisch reiner Alkohol zugefügt, wobei die alkoholunlöslichen Bestandteile der Pyocyanaase in flockigen Massen zur Ausscheidung gelangten. Nach etwa 20 Stunden wurde das Gemisch filtriert und im Vakuum verdunstet. Der Rückstand wurde nochmals mit Alkohol und Aether behandelt und abgedampft. Der so erhaltene letzte Rückstand wurde in steriler physiologischer NaCl-Lösung sorgfältig emulgiert, so daß die entstandene Lösung der Menge der Originalpyocyanaase entsprach. Die fast farblosen Abdampfrückstände wurden ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung entsprechend aufgeschwemmt und als Kontrolle verwendet.

Resultate		
0,5 Lipaide 0,1 „	} + 0,2 Virus fixe	alle Kaninchen leben
0,5 Pyocyanaase (Original) 0,1 dgl.		2 Kaninchen leben 1 Kaninchen lebt 1 anderes Kaninchen Lyssa
0,5 Rückstand 0,1 „	} + 0,2 Virus fixe	alle Kaninchen Lyssa
0,5 Lipaide 0,1 „		2 Kan. ohne Veränderung 2 Kaninchen Cornea trüb
0,5 Pyocyanaase (Original) 0,1 dgl.	} + 0,2 Vaccine- virus	alle Kaninchen Trübung der Cornea
0,5 Lipaide 0,1 „		2 Hühner leben
0,5 Pyocyanaase 0,1 „	} + 0,2 Hühner- pestvirus	2 Hühner starben nach 2 Tagen
0,5 Rückstand 0,1 „		2 Hühner starben nach 2 Tagen

Schlußfolgerung: Aus obigen Versuchen geht also deutlich hervor, daß das Pyocyanaselipoid imstande war, alle Virusarten zu vernichten, während der Extraktrest der Pyocyanaase dieser Wirkung vollkommen entbehrte. Es ist noch zu bemerken, daß das Lipoid viel wirksamer ist als die Originalpyocyanaase.

Zusammenfassung.

- 1) Oleïnsäure wirkt ziemlich stark vernichtend auf alle Virusarten.
- 2) Oleïnsaures Natrium und Kalium sowie Lecithin entfalten keine nennenswerte Wirkung, abgesehen von der Beziehung gegen Lyssavirus.
- 3) Die antiinfektiösen Eigenschaften der Pyocyanase beruhen auf dem alkohollöslichen lipoiden Körper. Dieser Körper wirkt noch intensiver als die ursprüngliche Pyocyanase. Diese Ungleichheit der Wirksamkeit kann wahrscheinlich dadurch erklärt werden, daß ein Teil des lipoiden Körpers in der Originallösung als Eiweißverbindung im inaktiven Zustande vorhanden sei.
- 4) Colilipoide entfalten auf alle Virussorten keine feindliche Wirkung.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geh.-Rat Proskauer); Hygienisch-bakteriologische Abteilung (Abt.-Vorsteher: Prof. Sobernheim).]

Versuche zur Deutung der pneumonischen Krisis.**II.**

Von **E. Seligmann.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Januar 1911.)

Vor einiger Zeit teilten Klopstock und ich Versuche zur Deutung der pneumonischen Krise mit¹⁾. Es war uns mit Hilfe des Experimentes nicht gelungen, den biologischen Charakter der Krise zu ergründen. Trotz dieser negativen Resultate hielten wir uns nicht für berechtigt, den Gedanken ablehnen zu dürfen, der die Krise als das eruptive Auftreten heilender Antikörper deutet; wir glaubten vielmehr, die Fehlresultate auf die Unzulänglichkeit der biologischen Experimentiertechnik schieben zu müssen.

1) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 4.

Dieser Anschauung sind Neufeld und Haendel¹⁾ kürzlich entgegengetreten; sie haben „nicht nur die Ueberzeugung gewonnen, daß die pneumonische Krisis ausschließlich auf der Bildung von Antikörpern beruht, sondern daß diese Antikörper auch experimentell mit Sicherheit nachweisbar und sogar recht gut quantitativ meßbar sind“. Sie geben ferner an, „in jedem untersuchten Falle“ Antikörper nachgewiesen zu haben, so daß sie deren Vorkommen für regelmäßig halten möchten. In einem gewissen Gegensatz hierzu steht der Passus einer früheren Arbeit der gleichen Autoren²⁾: „Wir fanden, daß das Serum von Pneumonierekonvaleszenten in der Regel, wenn auch nicht ausnahmslos und wenn auch in wechselnder Menge, diese Schutzkörper enthält.“

Der Nachweis dieser Schutzkörper geschieht nach Neufeld und Haendel folgendermaßen: 0,2 ccm Serum werden Mäusen intraperitoneal injiziert, 3 Stunden später ebenfalls intraperitoneal steigende Mengen Pneumokokkenkultur. Eine Kontrollreihe von Mäusen erhält die gleichen Kulturmengen ohne Serum. Der Schutzwert des Serums läßt sich quantitativ bewerten, je nach der Dosis Pneumokokken, gegen die das Serum noch schützt.

Die Verfasser geben auch eine Reihe von Versuchsprotokollen bekannt, in denen eine Schutzwirkung nachkritischer Sera zu erkennen ist. In vielen Fällen ist diese Schutzwirkung jedoch recht gering; ihr Wert verliert weiter noch dadurch, daß auch normale Sera nicht selten schützend wirken können (nach den eigenen Feststellungen von Neufeld und Haendel).

Da die von uns früher mitgeteilten Schutzversuche mit Pneumonieserum an Zahl nicht groß und bezüglich der Methodik ziemlich roh waren (wir injizierten pneumonisches Sputum Mäusen, die wir mit Serum behandelt hatten), so habe ich diesen Teil unserer Untersuchungen wieder aufgenommen und an einer größeren Zahl von Pneumonieseris festzustellen versucht, ob sich experimentell so deutliche Unterschiede zwischen vor- und nachkritischem Serum feststellen lassen, daß sie zur Erklärung des Krisis-Phänomens ausreichen.

1) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 34, Heft 2.

2) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3.

In der Methodik habe ich mich eng an die Angaben von Neufeld und Haendel gehalten; auch die Konservierung der Pneumokokken in dicker Blutschicht befolgt; nur in zwei Punkten bin ich abgewichen. Einmal nämlich habe ich die Kulturaufschwemmung, die zur Injektion benutzt wurde, etwas anders dargestellt: von der durch Pneumokokkenreinkultur getöteten Maus wurde nicht eine Serumbouillonkultur, sondern eine Glyzerinagarplatte angelegt, die mit einer Normalöse Blut bestrichen war. Die Platte wurde nach 24 Stunden mit 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und zur Infektion entsprechend weiter verdünnt. Die Virulenz der Pneumokokken leidet dadurch nicht; andererseits ist man gegen Verunreinigungen mehr geschützt; auch die Dosierung scheint mir eine gleichmäßigere und leichter zu kontrollierende zu sein, da die Platte im allgemeinen gleichmäßig und dicht bewachsen war.

Die zweite Besonderheit unserer Versuchsanordnung bestand darin, daß wir, wenn irgend möglich, denjenigen Pneumokokkenstamm benutzten, der die betr. Pneumonie erzeugt hatte, so daß in einer Anzahl unserer Fälle die Sera mit dem homologen Stamm geprüft wurden. Damit suchte ich den Erfahrungen von Neufeld und Haendel gerecht zu werden, die gefunden hatten, daß manche Pneumokokkenstämme biologisch Sondertypen darstellen, die im wesentlichen nur von dem homologen Serum beeinflusst werden.

Den Herren Geh.-Rat A. Fränkel, Prof. Klemperer und Prof. Krönig habe ich für die Liebenswürdigkeit zu danken, mit der sie mir Material ihrer Abteilungen zur Verfügung stellten (Innere Abteilungen der städtischen Krankenanstalten am Urban, Moabit und am Friedrichshain, Berlin); den Kollegen Dr. Cohn, Eden, Meidner, Maier, Rohmann und Schultze danke ich für die Ueberlassung der Sera und der klinischen Daten.

Im ganzen kamen 20 Sera zur Untersuchung: 11 vorkritische, 8 nachkritische und ein Fall von fieberloser asthenischer Pneumonie beim Kinde, den ich Herrn Kollegen Schloss (Waisenhaus, Rummelsburg) verdanke.

Die Virulenz unserer Pneumokokkenstämme war nur geringen Schwankungen unterworfen, die einfach tödliche Dosis betrug im allgemeinen 0,00001 ccm der oben erwähnten Aufschwemmung mit geringen

Schwankungen nach oben und unten. Die Kontrolltiere starben in 24—48 Stunden. Der einzelne Versuch spielte sich folgendermaßen ab.

Serum stets 0,2 ccm intraperitoneal, Kultur nach 3 Stunden in Menge von 0,2 ccm, ebenfalls intraperitoneal.

Versuch vom 7. I. 1911.

I. Kontrollmäuse.				II. Vorbehandelt mit Serum 15 (asthenische Pneumonie)			
0,1	ccm	Pneum. IX	} † n. 30 Std.	0,1	ccm	Pneum. IX	† n. 30 Std.
0,01	"	dgl.		0,01	"	dgl.	} † am 3. Tage
0,001	"	"		0,001	"	"	
0,0001	"	"		0,0001	"	"	} überleben
0,00001	"	"		0,00001	"	"	

In der folgenden Tabelle teilen wir die Resultate sämtlicher Untersuchungen mit, die nach gleicher Methodik angestellt worden sind; bei den mit einem Stern (*) bezeichneten Versuchen ist zur Infektion der homologe Stamm benutzt worden. Bei denjenigen Fällen, in denen 0,00001 ccm Kultur nicht getötet hat, ist eine besondere Notiz angebracht; ich habe im übrigen darauf verzichtet, in jedem Falle die gleichzeitig angesetzten Kontrollen ohne Serum in der Tabelle anzuführen.

Tabelle I.
Vorkritische Sera.

No.	Kulturdosis (0,2)	Resultat	Serum (0,2)			
*2	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion † " 2. " " " " † " 3. " " " " † " 3. " " " "	} 5. Tag, vor der Krisis			
6	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	} † am 2. Tage nach der Infektion überleben		} 4. Tag, vor der Krisis		
8	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001				} † am 2. Tage nach der Infektion † " 1. " " " " † " 2. " " " " überleben	} 3. Tag, vor der Krisis

No.	Kulturdosis (0,2)	Resultat	Serum (0,2)
*9	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 1. Tage nach der Infektion † „ 1. „ „ „ „ † „ 2. „ „ „ „	? Tag, vor der Krisis
*11	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	überleben	6. Tag, vor der Krisis. Exitus am 7. Tage (Kultur tötet nur bis 0,001 ccm)
12	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion überleben	? Tag, vor der Krisis Exitus (abscedierende Pneumonie) (Kultur 11 s. o.)
13	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 1. Tage nach der Infektion † „ 2. „ „ „ „ † „ 1. „ „ „ „ überleben	4. Tag, vor der Krisis
*14	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 1. Tage nach der Infektion † „ 4. „ „ „ „	5. Tag, vor der Krisis
15	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion † „ 3. „ „ „ „ überleben	fieberlose, asthenische Pneumonie
16	0,1 0,01 0,001 0,00001	† am 3. Tage nach der Infektion überleben	? Tag, vor der Krisis (ad exitum gekommen)
17	0,1 0,01 0,001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion	7. Tag, vor der Krisis
18	0,1 0,01 0,001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion	4. Tag, vor der Krisis

Tabelle II.
Nachkritische Sera.

No.	Kulturdosis (0,02)	Resultat	Serum 0,2
1	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion † " 1. " " " " † " 2. " " " " † " 3. " " " "	Pneum. ohne Auswurf 8 Stunden nach der Krisis
*3	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 1. Tage nach der Infektion † " 4. " " " " † " 2. " " " " † " 4. " " " " überlebt	1 Tag nach der Krisis
4	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 4. Tage nach der Infektion † " 3. " " " " † " 4. " " " " † " 2. " " " "	4 Tage nach der Krisis
*5	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion † " 3. " " " " † " 4. " " " "	lytischer Abfall, 3. Tag fieberfrei
7	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	überleben sämtlich	10. Tag nach der Krisis
*10	0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion	4. Tag nach der Krisis
19	0,1 0,01 0,001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion † " 4. " " " " † " 2. " " " "	9. Tag nach der Krisis
20	0,1 0,01 0,001 0,00001	† am 2. Tage nach der Infektion	1 Tag nach der Krisis

6*

Diesen Tabellen ist nicht viel hinzuzufügen. Ausgesprochene Schutzwirkung zeigen die Sera 6, 7, 11, 16; etwas schwächer, aber noch deutlich schützen: 8, 13, 15, 16. Von diesen Seris ist nur eines, und zwar das mit der stärksten Schutzwirkung, postkritisch, nämlich 7. Im übrigen zeigen die postkritischen Sera nicht selten im Versuch gewisse Unregelmäßigkeiten, so zwar, daß bei den vorbehandelten Tieren mitunter schwache Kulturdosen schneller zum Tode führten als stärkere. Vereinzelt kam dies Verhalten auch bei der Vorbehandlung mit antekritischem Serum zur Beobachtung.

Aus der Gesamtheit unserer Versuche geht jedenfalls hervor, daß ein prägnanter Unterschied zwischen vor- und nachkritischem Serum bezüglich einer spezifischen Schutzwirkung nicht besteht, daß zwar nicht selten ein deutlicher Schutz gegen Pneumokokkeninfektion demonstrierbar ist, diese Schutzwirkung jedoch sowohl vorkritischem wie nachkritischem Serum zukommen kann. Nimmt man die Beobachtungen von Neufeld und Haendel hinzu, daß auch normale Sera nicht selten schützend wirken, so erhebt sich die Frage, ob die beobachteten Schutzwirkungen überhaupt etwas mit der Pneumonie als solcher zu tun haben, ob es sich überhaupt um spezifische Immunitätserscheinungen handelt. Zwingende Beweise hierfür liegen jedenfalls nicht vor.

Durch die Anaphylaxiestudien Friedbergers¹⁾ ist nun eine neue Erklärungsmöglichkeit der Krise in die Debatte geworfen worden. Allerdings ist schon die theoretische Arbeitshypothese widerspruchsvoll.

Friedberger nimmt an, daß die Symptome der Infektion nichts anderes darstellen als Symptome einer mehr oder minder protrahierten Anaphylaxievergiftung. Auf die experimentellen Grundlagen dieser Anschauungsweise soll hier nicht eingegangen werden. Ich nehme nur Bezug auf seine Angaben bezüglich der Pneumonie: Die Infektion kommt (ganz allgemein) zustande dadurch, daß „am Ende des Inkubationsstadiums bereits genügende Mengen von Mikroorganismen und Antikörpern zur Erzeugung einer fiebererregenden Dosis von Anaphylatoxin vorhanden sind“.

1) Berlin. klin. Wochenschr., 1910, No. 32 und 42.

Das Fieber der Infektion selbst wird nur hervorgerufen „durch die Anaphylatoxinbildung aus Spuren parenteral vorhandenen Eiweißes“ (hier Bakterieneiweiß). Der Wechsel von Anaphylaxie und Antianaphylaxie bestimmt die Fieberkurve. Andererseits soll bei der Pneumonie möglicherweise in den Lungen die Bildung des Anaphylaxiegiftes vor sich gehen, seine Ausschwemmung in den Kreislauf führt zu den bekannten Allgemeinerscheinungen.

Für die Erklärung der pneumonischen Krisis ist mit diesen Spekulationen nicht viel anzufangen. Hier setzt vielmehr ein anderer Gedankengang ein: der kritische Temperatursturz bei der Pneumonie kann mit dem Temperatursturz des anaphylaktischen Shocks in Parallele gesetzt werden; dadurch würden aber wiederum die Theorien über das infektiöse Fieber bei der Pneumonie außer Kurs gesetzt werden müssen. Also Widersprüche auf der ganzen Linie! Auch als Arbeitshypothese sind diese Ueberlegungen von zweifelhaftem Werte, da negative Resultate sich auf die eine oder die andere Weise stets theoretisch verständlich machen lassen. Nur positive Versuche könnten eine gewisse Beweiskraft haben, deshalb haben wir die Versuche in den Bereich unserer Ueberlegungen gezogen.

Es galt, nachzuweisen

- 1) ob sich im vorkritischen Serum Sensibilisin oder aber anaphylaktischer Reaktionskörper befindet;
- 2) ob sich im nachkritischen Serum anaphylaktischer Reaktionskörper demonstrieren läßt;
- 3) ob akut wirksames Anaphylaxiegift im vorkritischen Serum vorhanden ist.

Wir haben die Versuche an Meerschweinchen ausgeführt, auf sensibilisierendes Antigen so geprüft, daß wir mit 1 ccm Pneumonieserum vorbehandelten, nach etwa 3 Wochen 1 ccm Pneumokokkenaufschwemmung intravenös nachinjizierten.

Resultat: negativ. Zwar zeigten einige Tiere die bekannten Kratz- und Hustenerscheinungen, jedoch kam es niemals zu schwereren, sicher deutbaren Symptomen bzw. zum Exitus.

Auf anaphylaktischen Reaktionskörper prüften wir so, daß wir Meerschweinchen intraperitoneal 5—6 ccm Serum einspritzen, nach 24 Stunden dann 1 ccm Pneumokokkenaufschwemmung intravenös nachinjizierten.

Resultat: negativ. Ein Tier ging etwa eine Viertelstunde nach der Reinjektion zugrunde, jedoch fehlte der charakteristische Sektionsbefund. (Embolie?)

Auf Anaphylaxiegift prüften wir durch die intraperitoneale Injektion größerer Mengen von Pneumonieserum (bis 10 ccm).

Resultat: ein Tier ging in 24 Stunden ein, nachdem es kurz nach der Injektion anaphylaxieähnliche Symptome gezeigt hatte. Es handelte sich jedoch um ein sehr kleines Tier (ca. 250 g), dem 10 ccm eingespritzt worden waren, auch der Sektionsbefund zeigte nichts Charakteristisches, so daß wir dieser Einzelbeobachtung neben 8 negativen Resultaten keine Bedeutung beimessen möchten.

Es sind also auch in dieser Richtung alle Versuche ohne Ergebnis geblieben, so daß wir auch weiterhin resignieren müssen. Die bisherige biologische Methodik reicht nicht aus, um den relativ einfachen Vorgang der pneumonischen Krisis zu erklären.

Zusammenfassung.

Der Nachweis spezifischer Schutzstoffe im nachkritischen Pneumonieserum gelang nicht. Auch der Versuch, durch Ueberlegungen aus dem Gebiete der Anaphylaxie die Krisis zu erklären, fand keine experimentelle Stützen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Biologischen Abteilung (Prof. v. Dungern) des Institutes für Krebsforschung (Geheimrat Prof. Czerny, Exzellenz).]

Ueber gruppenspezifische Strukturen des tierischen Blutes.

Von **Heinrich Brockmann**, cand. med. (Warschau).

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Januar 1911.)

Durch parenterale Einführung von Blut in eine fremde Tierart lassen sich bekanntlich artspezifische Antikörper erzeugen.

Die Differenzierung der Blutkörperchen innerhalb der Art haben zum erstenmal Ehrlich und Morgenroth durch Immunisierung von Ziegen mit Ziegenblut erreicht. Die genannten Forscher erzielten nach Injektion von Blut Hämolsine, die lediglich das Blut einzelner Ziegen zu lösen vermochten, während sie das Blut anderer Ziegen nicht beeinflussten. v. Dungern und Hirschfeld konnten durch Immunisierung von Hunden mit Hundeblood Isoagglutinine erzeugen, wobei sie einen eigentümlichen Zusammenhang zwischen der Agglutinabilität der Blutkörperchen und dem Auftreten von Isoantikörpern feststellen konnten. Die Autoren unterscheiden je nach der Beeinflussbarkeit der Blutkörperchen durch bestimmte Isoagglutinine bei Hunden zwei Strukturen. Die gefundene Gesetzmäßigkeit bestand darin, daß nie Antikörper geliefert werden konnten gegen das Blut von Hunden, deren Blut dieselbe Struktur besaß, wie das Blut der behandelten Hunde. Ähnliche Gesetzmäßigkeit hat schon früher Landsteiner durch Untersuchung der menschlichen Normalagglutinine festgestellt. Er konnte zwei Strukturen, A und B, im menschlichen Blut unterscheiden. Die Menschen, deren Blut die Struktur A aufweist, besitzen im Serum ein gegen B gerichtetes Agglutinin. Die Menschen mit der Struktur B im Blut besitzen im Serum Agglutinine für das Blut der Gruppe A. Bei Menschen, die beide Bestandteile im Blute aufweisen, besitzen die Sera keine Isoagglutinine, bei Menschen ohne spezifische Bestandteile im Blut reagiert das Serum sowohl mit dem Blut A wie mit Blut B. v. Dungern und Hirschfeld haben die Landsteinersche Regel bestätigen können, sie konnten außerdem durch Zuhilfenahme von tierischen Seren noch weitere gruppenspezifische Bestandteile entdecken. Die von den Autoren benutzte Methodik beruht darauf, durch Absorption mit irgendeinem Menschenblut das auf alle Menschenblutsorten wirkende Artagglutinin zu entfernen. Es bleiben dann Agglutinine zurück, die lediglich mit dem Blut einzelner Menschen reagieren. Die auf diese Weise erzielten Gruppierungen fallen meistens mit den durch die Isoagglutinine charakterisierbaren zusammen. Es kommen aber auch solche Agglutinine

vor, die keinen Zusammenhang mit den Hauptgruppen A und B aufweisen, ein Verhalten, welches den Autoren ermöglichte, durch Zusammenstellung von vielen absorbierten tierischen Seren eine individuelle Blutdiagnostik durchzuführen.

Prof. v. Dungern veranlaßte mich, zu untersuchen, ob auch bei Hunden durch ähnliche Methodik gruppenspezifische Strukturen sich nachweisen lassen. In zweiter Linie sollte auch festgestellt werden, ob ein Zusammenhang dieser Strukturen mit denjenigen, die durch Isoagglutinine bei Hunden nachweisbar sind, besteht.

Das Blut wurde aus der Vena jugularis durch Punktion gewonnen, defibriniert, das Serum nach dem Zentrifugieren abgehoben und eine halbe Stunde bei 56° inaktiviert. Die Blutkörperchen wurden zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Für die Absorptionsversuche wurde ein durch Zentrifugieren eingedicktes Blut benutzt, für die Prüfungen auf Agglutinabilität wurde eine etwa 3-proz. Blutauflösung mit der doppelten Menge Serum versetzt. Nach dem Vermischen wurden die Reagenzgläschen auf Eis gestellt, da die empfindlichen Hundebloodkörperchen bei Zimmertemperatur oft auch durch inaktives Serum gelöst werden.

Bemerkung zu den Protokollen: Serum Brockmann—Hund Vater bedeutet: Serum Brockmann absorbiert mit Blut Hund Vater. ++ bedeutet komplette Agglutination, + starke, + bis ± mittelstarke, ± schwache, ± bis ± Spuren. Ganz schwache Agglutination wurde nicht berücksichtigt.

Ueber die Beziehungen der Hundebloodsorten zu den menschlichen Isoagglutininen α und β .

Die im menschlichen Blut etwa bei 17 Proz. aller Menschen vorkommende Eigenschaft B ist von v. Dungern und Hirschfeld¹⁾ bereits bei mehreren Tierarten nachgewiesen worden. Der Nachweis läßt sich leicht erbringen, wenn man ein menschliches Serum, etwa der O-Gruppe, also ein Serum, das sowohl das Agglutinin α wie Agglutinin β enthält, mit dem betreffenden tierischen Blut versetzt; es läßt sich dann nachweisen, daß nach der stattgefundenen Absorption das Agglutinin α meist ungeschwächt wirkt, während das Agglutinin β in der Regel verschwunden ist. Ich habe 13 Hunde nach dieser Richtung hin geprüft und konnte feststellen, daß sie sämtlich das Agglutinin β absorbieren.

1) Münch. med. Wochenschr., 1910; Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910.

Protokoll.

	Blut A Kepinow	Blut B Deetjen
Serum Brockmann	+	+
" " —Hund Vater	+	± b. ±
" " —Junges Weibchen	+	± b. ±
" " —Junges Männchen	+	± b. ±
" " —Hund 13	+	± b. ±
" " — " 14	+	± b. ±
" " — " 17	±	± b. ±
" " — " 21	+	0
" " — " 33	+	± b. ±
" " —Jagdhund	+	0

	Blut A Ludwig	Blut B Deetjen
Serum Brockmann	+	+
" " —Kleiner Schnauzer	+	0
" " —Weißer Foks	+	0
" " —Hund 17	±	0
Serum Karl	+	+
" " —Hund 13	+	± b. ±
" " —Hund 17	±	0
" " —Kleiner Schnauzer	+	0
" " —Weißer Foks	+	± b. ±

	Blut A Patient	Blut B Deetjen
Serum Elisabeth	++	++
" " —Hund 33	+	0
" " —Jagdhund	+	0
" " —Grauer Pintscher	+	0
" " —Gelber Pintscher	+	0

	Blut A Ludwig	Blut B Deetjen
Serum Saal	++	++
" " —Hund 13	++	+
" " —Hund 14	++	+
" " —Hund Vater	+	+
" " —Junges Männchen	++	+
" " —Junges Weibchen	++	+

	Blut A Ludwig	Blut B Simonson	Blut O Brockmann
Serum Hund 13—Blut Becker (O)	++	±	0
„ Hund 14—Blut Becker	++	+ b. ±	0
„ Hund Vater—Blut Becker	++	±	0
„ Junges Männchen—Bl. Becker	++	0	0
„ Junges Weibchen—Bl. Becker	+	0	± b. ±
„ Hund 21—Blut Becker	++	±	0
„ Hund 35—Blut Becker	++	+ b. ±	0

	Blut A Ludwig	Blut B Deetjen
Serum Gelber Foks—Blut Karl (O)	+	±
„ Hund 17—Blut Karl (O)	0	0
„ Kleiner Schnautzer—Blut Karl (O)	+	0
„ Hund 27—Blut Karl (O)	0	0

Es muß betont werden, daß nicht alle Menschensera sich so verhalten. So vermag z. B. das Hundeblut aus dem Serum Saal das Agglutinin β nicht zu absorbieren. Das auf Menschenblut wirkende Agglutinin α wurde lediglich durch den Hund 17 teilweise absorbiert.

Ich habe bei sämtlichen von mir untersuchten Hunden die Sera auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen Menschenblutsorten geprüft, wobei ich mich der von v. Dungern und Hirschfeld¹⁾ angegebenen Methode der Absorption mit irgendeinem Blut der O-Gruppe bediente. Wie aus dem Protokoll zu ersehen ist, agglutinierte das so behandelte Serum die Blutsorten der Gruppe A in der Regel stark, die Blutsorten der Gruppe B schwächer, aber immerhin deutlich. Lediglich im Serum der Hunde 17 und 27 konnten keine gruppenspezifischen Agglutinine gefunden werden.

Es ist somit zu konstatieren, daß sämtliche untersuchten Hunde imstande sind, das menschliche Agglutinin β zu absorbieren, während die Eigenschaft, α zu binden, nur bei einem Hunde in schwachem Grade gefunden werden konnte. Die meisten Tiere besitzen gleichzeitig im Serum mehr oder weniger starke, mit den Strukturen A und B der menschlichen Blutsorten reagierende

1) l. c.

Agglutinine, die lediglich in vereinzeltten Fällen vermißt werden.

Ueber die Differenzierungen der Hundeblutsorten durch artfremde Sera.

Es gelingt leicht, die menschlichen Blutsorten durch absorbierte tierische Sera zu differenzieren. Ueber ähnliche Differenzierungen bei Hunden liegen bis jetzt keine Beobachtungen vor. Ich habe folgende Absorptionsversuche mit verschiedenen Hundeblutsorten vorgenommen. Ich verwandte hauptsächlich menschliche Sera, da die Bestimmung der gruppenspezifischen Agglutinine in denselben ohne weiteres gelingt, so daß eine Uebereinstimmung mit den gruppenspezifischen Eigenschaften der menschlichen Blutkörperchen, wenn sie besteht, sich leicht nachweisen läßt.

Protokoll.

	Blut Vater	Junges Männchen	Junges Weibchen	Gelb. Foks	17	21	27	33	13
Ser. Brockm. ($\alpha + \beta$)—Hund Vater	0	0	0	0	\pm	0	0	0	0
" " " —Jung. Männchen	0	0	0	0	\pm	0	0	0	0
" " " —Jung. Weibchen	0	0	0	0	\pm	\pm	\pm	0	0
" " " —Gelber Foks	0	0	0	0	\pm	\pm	\pm	0	0
" " " —Hund 17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" " " —Jagdhund 27	0	0	0	0	\pm	0	0	0	0
" " " —Hund 13	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
" " " —Hund 21	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
Serum Karl ($\alpha + \beta$)—Hund Vater	0	0	0	0	\pm	0	0	0	0
" " " —Junges Männchen	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
" " " —Junges Weibchen	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
" " " —Gelber Foks	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
" " " —17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" " " —21	0	0	0	0	\pm	0	\pm	0	0
" " " —27	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		13	33		17		27		
Serum Ludwig (β)—Hund 13	0	0	0	0	0		0		
" " " — " 33	0	0	0	0	0		0		
" Kristine (α)— " 13	0	0	0	0	\pm		0		
" " " — " 33	0	0	0	0	\pm		0		
" Plenge (O)— " 13	0	0	0	0	0		0		
" " " — " 33	0	0	0	0	0		0		

Die Versuche ergeben, daß nach Absorption der menschlichen Sera mit irgendeiner Hundeblutsorte meistens keine Agglutinine für andere Hundeblutsorten übrig bleiben. In einigen Fällen ließen sich dagegen nach der Absorption gruppenspezifische Agglutinine für Hundeblut nachweisen. So wurde das Blut des Hundes 17 nach der Absorption der Sera Brockmann ($\alpha + \beta$), Karl ($\alpha + \beta$), Kristine (α) mit anderen Hundeblutsorten in der Regel noch agglutiniert. Blut des Hundes 27 wurde vom Serum Brockmann und Karl nach Absorption mit mehreren Blutsorten noch agglutiniert. Serum Brockmann agglutinierte Blut Hund 21 nur nach der Absorption mit einzelnen Blutsorten. Das Blut des Hundes 17 entzog dem Serum das gesamte Agglutinin für Hundeblut. Nach Absorption des Serums Brockmann mit Blut 27 verschwanden Agglutinine für Blut 21, für 17 dagegen nicht. Nach Absorption mit Blut 21 blieben noch Agglutinine für Blut 17 wie 27 zurück. Die menschlichen Sera verhielten sich dabei verschieden, ohne daß die Verschiedenheit mit dem Vorhandensein von α und β in Zusammenhang gebracht werden konnte. So entzieht z. B. das Blut 27 dem Serum Karl auch das Agglutinin für Blut 17, bei Serum Brockmann gewöhnlich nicht. Die anderen Sera (Ludwig [β], Plenge [O]) vermochten nach der Absorption mit irgendeiner Hundeblutsorte die anderen überhaupt nicht zu beeinflussen.

Es ergibt sich somit die interessante Tatsache, daß die verschiedenen menschlichen Sera in ihren Beziehungen zu bestimmten Hundeblutsorten sich ganz verschieden verhalten können, eine Tatsache, welche in verschiedenen Beziehungen der Sera einer und derselben Tierart gegenüber verschiedenen Menschenblutsorten ihr Analogon findet.

Weiter suchte ich den Zusammenhang dieser spezifischen Eigenschaften mit den menschlichen Eigenschaften A und B festzustellen. Das Untersuchungsmaterial ist für die Vornahme von mehreren Absorptionen nicht sehr geeignet, da die gruppenspezifischen Agglutinine der Menschensera für Hundeblut schwach sind. Ich konnte immerhin unter Berücksichtigung auch quantitativer Differenzen feststellen, daß nach Behandlung der menschlichen Sera mit Menschenblut der Gruppe A und B

die gruppenspezifischen Agglutinine für Hunde verschwinden können.

Dem Serum Brockmann wurde durch Absorption mit Blut der Gruppe A bzw. Gruppe B die auf Menschenblutsorten wirkenden Agglutinine α und β entzogen (als Kontrolle behandelte ich Serum Brockmann mit Blut Brockmann). Dann wurde das Agglutinin für Hundeblut absorbiert und das so behandelte Serum auf seine Wirkung für Blut 17 geprüft. Der Versuch ergab, daß während die Wegnahme von α allein oder β allein die Agglutinationswirkung für 17 lediglich abschwächte, jeder Agglutinationseffekt ausblieb, wenn beide Agglutinine dem Serum entzogen wurden. Es läßt sich aber aus diesem Versuch allein nicht schließen, daß gruppenspezifische Agglutinine α und β auch für die Gruppierungen bei Hunden allein maßgebend sind, zumal andere Versuchsergebnisse dagegen sprechen. Es ist möglich, daß das Serum seine Agglutinationswirkung gegenüber Blut 17, welches wie erwähnt, sowohl α wie β absorbiert, mehreren Agglutininen verdankt und daß die nach der Wegnahme von α und β zurückbleibenden Agglutinine nicht stark genug sind, um eine sichtbare Agglutination zu bewirken.

Protokoll.

	33	17
Serum Brockmann ($\alpha + \beta$)—Blut A—Hund 33	0	\pm b. \pm
„ „ „ —Blut B—Hund 33	0	\pm b. \pm
„ „ „ —Blut A—Blut B—Hund 33	0	0
„ „ „ —Blut Brockmann (O)—33	0	\pm

Mit tierischem Serum lassen sich die spezifischen Unterschiede der Hundeblutsorten nur in beschränktem Maße nachweisen. Manche, z. B. Hammelserum, lassen ähnliche Unterschiede wie die menschlichen Sera aufdecken. Rinderserum läßt dagegen nach Absorption mit einzelnen Hundeblutsorten hauptsächlich Agglutinin für Blut Vater zurück. Pferdeserum war zur Differenzierung ungeeignet. Von verschiedenen Tierarten habe ich nur je ein Serum untersucht, es ist aber nach Erfahrungen mit Menschenblutsorten wahrscheinlich, daß Sera der gleichen Art in Beziehung zu verschiedenen Hundeblutsorten sich individuell verschieden verhalten werden.

Protokoll.

	Gelber Foks	17	21	27
Serum Hammel—Gelber Foks	0	±	±	0
„ „ —Hund 17	0	0	0	0
„ „ —Hund 21	0	0	0	0
„ „ —Hund 27	0	0	0	0
Serum Pferd—Gelber Foks	0	0	0	0
„ „ —Hund 17	0	0	0	0
„ „ —Hund 21	0	0	0	0
„ „ —Hund 27	0	0	0	0

	Vater	Junges Männchen	Junges Weibchen	Gelber Foks	17	21	27	33	13
Serum Rind—Hund Vater	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Jung. Männchen	±	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Jung. Weibchen	±	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Gelber Foks	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Hund 17	±	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Hund 21	±	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Hund 27	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Hund 33	±	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ —Hund 13	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Es ist somit festgestellt, daß man mit menschlichen und tierischen Sera bei Hunden manchmal gruppenspezifische Eigenschaften feststellen kann.

Ueber die Beziehungen der durch die absorbierten artfremden Sera und durch die Isoagglutinine charakterisierbaren gruppenspezifischen Blutstrukturen der Hunde.

Es war nun wichtig, den Zusammenhang dieser spezifischen Strukturen mit den durch die Isoagglutinine nachweisbaren zu untersuchen. Ich nahm daher bei den Hunden Immunisierungsversuche vor, außerdem standen mir einige der Hunde zur Verfügung, bei welchen durch ältere Untersuchungen von v. Dungern und Hirschfeld gruppenspezifische Eigenschaften im Blute bereits nachgewiesen waren. In Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen fand ich, daß die Blutkörperchen gewöhnlich durch normale Hundesera nicht agglutiniert werden. Lediglich das Blut von Hund 17 wurde

von den meisten, das Blut von 27 vom Serum eines Hundes schwach agglutiniert. Die individuellen Verschiedenheiten sind für die Isoantikörperbildung maßgebend, und zwar in der Weise, daß das eingespritzte Blut sich anders verhalten muß als das Blut des Antikörper liefernden Tieres. Ich wählte daher zum Versuch solche Hunde, bei welchen ich durch artfremde Sera im Blute Unterschiede feststellen konnte.

Wenn man solche Blutkörperchen, die nach Absorption eines Serums mit irgendeinem Hundeblut durch dieses Serum noch agglutiniert werden, als im Besitze der Struktur ansieht, welche dem zur Absorption benutzten Blut fehlt, so kann man die verschiedenen von mir untersuchten Hundeblutsorten in folgende Gruppen einteilen:

Hunde: junges Männchen, junges Weibchen, gelber Foks, 13 und 33 absorbieren für sich gegenseitig Agglutinin, lassen dagegen Agglutinin für 21, 27 und 17 zurück. Ich betrachte diese Hunde als zur Gruppe O gehörig (keine gruppenspezifische Strukturen).

Hund 21 wird nach Absorption mit Blut der Hunde der O-Gruppe meistens noch agglutiniert, besitzt also Struktur X.

Hund 27 wird durch Serum Karl nach der Absorption des Serums mit Blut 21 noch agglutiniert, sein Blut absorbiert Agglutinin für 21. Hund 27 besitzt also die Strukturen XY.

Blut Hund 17 absorbiert das Agglutinin für 27, es wird außerdem nach Absorption des Serums Brockmann mit Blut 27 noch agglutiniert. Blut Hund 17 besitzt also die Strukturen XYZ.

Ich behandelte die Hunde: Hund 17 mit Blut 27, Hund 33 mit Blut 17, gelber Foks mit Blut 27, junges Weibchen mit Blut 21, Hund 21 mit Blut gelber Foks, Hund 13 mit Blut 33. Es wurde jedem Hunde 2mal mit einem wöchentlichen Intervall 10 ccm eingedicktes Blut intraperitoneal eingespritzt.

Ich konnte nur in 2 Fällen Isoagglutinine erzielen. Hund 17 lieferte Antikörper gegen Blut 27, junges Weibchen gegen 21. Während dies letztere mit der Differenzierung, die ich durch Serum Brockmann erzielte, übereinstimmt, beweist die Tatsache, daß Hund 17 für Blut 27 Agglutinine geliefert hat, daß die Unterschiede, die die Antikörperauslösung bedingen, mit der durch die artfremden Sera bewirkten Differenzierung nicht zusammenzuhängen brauchen.

Denn wie erwähnt, besitzt das Blut des Hundes 17 die Eigenschaft XYZ, somit dürfte er nach der für die Isoantikörperbildung geltenden Regel keine Antikörper für das Blut 27 (XY) liefern. Daß in der Tat eine viel größere Mannigfaltigkeit der spezifischen Bestandteile, als es durch fremdartige Sera zu erzielen ist, vorkommt, beweist auch das Verhalten des Blutes der Hunde junges Weibchen und junges Männchen, die ich durch fremdartige Sera (Brockmann, Karl, Rind) nicht zu differenzieren vermochte, während dies v. Dungern und Hirschfeld¹⁾ mit den damals erzielten Isoagglutininen gelungen ist. Es ist auch bemerkenswert, daß in Fällen, wo Strukturverschiedenheiten des Blutes durch absorbierte fremdartige Sera nachweisbar waren, keine Immunkörperbildung erfolgte. Es ist denkbar, daß das eingespritzte Blut nicht bloß Eigenschaften aufweisen muß, die dem Blute des immunisierten Tieres fehlen, sondern sich auch von den Antikörpern bildenden Organen in seinen spezifischen Strukturen unterscheiden muß. Ich denke dabei als Beispiel an die von v. Dungern und Hirschfeld²⁾ nachgewiesenen Nierenstrukturen. Es ist aber auch denkbar, daß die kleineren etwa auf verschiedenen Seitengruppen der Hauptstrukturen beruhenden Differenzen des Blutes keinen genügenden antigenen Reiz abgeben, während die verschiedenen selbständig mendelnden Hauptstrukturen, wenn sie im Blute der behandelten Tiere fehlen, die Antikörperbildung veranlassen können.

Protokoll.

Normalsera	Vater	Junges Weibchen	Gelber Foks	17	27	21	13	33
Hund Vater	0	0	0	±	0	0	0	0
Junges Weibchen	0	0	0	±	0	0	0	0
Gelber Foks	0	0	0	±	0	0	0	0
Hund 17	0	0	0	0	0	0	0	0
Hund 27	0	0	0	0	0	0	0	0
Hund 21	0	0	0	±	0	0	0	0
Hund 13	0	0	0	±	0	0	0	0
Hund 33	0	0	0	±	0	0	0	0

1) l. c.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1911. .

Immunsera	Junges Weibchen	Gelber Foks	17	27	21	13	33
Serum Junges Weibchen	0	0	±	0	±	±	0
„ Gelber Foks	0	0	±	0	0	0	0
„ Hund 17	0	0	0	±	0	0	0
„ Hund 27	0	0	0	0	0	0	0
„ Hund 21	0	0	± b. ±	0	0	0	0
„ Hund 13	0	0	0	0	0	0	0
„ Hund 33	0	0	±	±	0	0	0

Gleichzeitig mit den Isoantikörpern ist ein auf die menschlichen Blutsorten der B-Gruppe wirkendes Agglutinin erschienen. Dieses Agglutinin läßt sich durch das Blut, welches zu ihrer Bildung Veranlassung gab, nicht absorbieren. Da im Hundeblut die Eigenschaft B nachgewiesen wurde, so ist die Bildung von auf Menschenblut mit der Eigenschaft B wirkenden Agglutininen an und für sich erklärlich. Die Unmöglichkeit, den Antikörper durch das zugehörige Antigen zu absorbieren, weist auf noch ungeklärte Beziehungen zwischen der antigenen Funktion und der Absorptionsfähigkeit des Blutes hin.

Protokoll.

	Blut A Ludwig	Blut B Deetjen
Normalserum Hund 17—Blut Karl (O)	0	0
„ Junges Weibchen—Blut Becker (O)	+	0

	Blut A Anna	Blut B Deetjen	Blut B Oberin
Immunser. Hund 17—Blut Karl (O)	0	+	+
„ Hund 17—Blut Brockmann (O)	0	+	+
„ Jung. Weibchen—Blut Hirschfeld (O)	+	+ b. ±	

	Blut B Deetjen
Immunserum Hund 17—Blut Hund 27—Blut Karl (O)	+ b. ±

Ueber die Beziehungen der Rinderblutsorten zu den menschlichen Isoagglutininen α und β .

Die Rinderblutkörperchen werden in der Regel durch fremdartige Sera nicht agglutiniert. Um so überraschender war die Tatsache, daß das Blut der Rinder das menschliche Agglutinin β absorbiert. Ich hatte Gelegenheit, 8 verschiedene Rinderblutsorten zu untersuchen und konnte ausnahmslos diese Tatsache bestätigen. Daß trotzdem die Rinderblutsorten nicht agglutiniert werden, beweist, daß ihre Inagglutinabilität in irgendwelchen physikalischen Faktoren begründet ist. In der Tat konnte Hirschfeld¹⁾ feststellen, daß auch gegenüber Abrin, Salzen, anorganischen Kolloiden die Suspensionsstabilität des Rinderblutes eine bedeutend höhere ist, als die der anderen Blutsorten. Daß aber trotzdem eine besondere spezifische Konfiguration des Rezeptorenapparates die physikalische Eigentümlichkeit des Rinderblutes verdecken kann, beweisen Versuche mit Blut Rind No. I und X. Bei diesen Blutsorten konnte ich mit zwei menschlichen Seren eine sehr starke Agglutination erzielen, obgleich sich im Versuch mit Abrin kein Unterschied in der Suspensionsstabilität gegenüber anderen Rinderblutsorten feststellen ließ. Die auf diese Weise festgestellten gruppenspezifischen Strukturen zeigen keinen Zusammenhang mit den Agglutininen α oder β , da die genannten Blutsorten durch menschliche Sera verschiedener Gruppen gleich stark agglutiniert werden.

Untersuchungen über gruppenspezifische Bestandteile des Rinderblutes haben unlängst Todd und White²⁾ mit Immunisohämolysinen angestellt. Sie konnten durch wiederholte Absorptionen schließlich individuum-spezifische Hämolysine erzielen. Mit Agglutininen konnte ich wegen fehlender Agglutinabilität keine größeren Versuche anstellen. Ich suchte lediglich das auf I spezifisch wirkende Agglutinin durch Absorption mit unbeeinflussbaren Blutsorten zu isolieren. Wie der Versuch ergibt, absorbieren die inagglutinablen Blutsorten No. II und IV auch das Agglutinin für Rinderblut No. I. Es lassen sich somit durch die Absorptionsmethode keine

1) Arch. f. Hyg., 1907.

2) Proc. of the Royal Society, 1910; Journ. of Hyg., 1910.

besonderen Strukturen in den agglutinablen Rinderblutsorten feststellen. Andererseits ist, wie aus den Abrinversuchen hervorgeht, die Suspensionsstabilität dieselbe, wie bei den inagglutinablen Blutsorten. Warum sie trotzdem agglutiniert werden, läßt sich vorderhand noch nicht entscheiden, zumal die Beziehungen zwischen der Bindung des Antikörpers und der Veränderung der Suspensionsstabilität, die in der Agglutination ihren Ausdruck findet, trotz der wichtigen Untersuchungen der letzten Jahre noch nicht geklärt sind.

Die Untersuchung der Rindersera hat ergeben, daß die meisten die Eigenschaft besitzen, nach der Absorption mit Menschenblut der Gruppe O auf die Menschenblutsorten der Gruppe A und B spezifisch zu wirken.

Protokoll.

	Blut A	Blut B		Blut A	Blut B
Serum Saal	++	++	S. Brockm.	+	+
" " — Rind 5	++	±	" " — Rind I	+	0
" " — " 6	++	±	" " — " II	+	0
" " — " 7	++	±	" " — " III	±	0
" " — " 8	++	±	" " — " IV	+	0

	A Ludwig	B Deetjen
Rind I — Blut Brockmann (O)	0	0
" II — " "	0	0
" IV — " "	+	±
" V — " "	+	±
" VI — " "	±	±

	Blut A Ludwig	Blut B Simonson	Blut O Brockmann
Rind 1 — Blut Becker (O)	±	±	0
" 2 — " " "	±	±	0
" 3 — " " "	+	±	0
" 4 — " " "	+ b. ±	± b. ±	0

	Blut Rind I	Blut Rind II	Blut Rind IV
Serum Anna (O)	+	±	0
" " — Rind I	0	0	0
" " — " II	0	0	0
" " — " IV	0	0	0

7*

	Rind X	Rind I	Rind II	Rind III	Rind IV	Rind V	Rind VI	Rind VII
Serum Ludwig (β)	.	\pm	0	0	0	0	0	0
" Simonson (α)	.	\pm	0	0	0	0	0	0
" Anna (O)	++	+	\pm	0	0	\pm	0	0
" Hirschfeld ($\alpha + \beta$)	.	\pm	0	0	0	0	0	0
" Isar (β)	.	\pm	0	0	0	0	0	0
" Wernicke (α)	++	+	0	0	0	0	0	0
" Karl ($\alpha + \beta$)	0	0	0	0	0	0	0	0
" Hammel	0	0	0	0	0	0	0	0
" Pferd	0
" Ziege	0

Abrin	Rind I	Rind II	Rind IV
$\frac{1}{100}$	+	+	+
$\frac{1}{500}$	\pm	\pm	\pm
$\frac{1}{1000}$	0	0	0
$\frac{1}{10000}$	0	0	0

Es ergibt sich somit: 1) daß die Rinderblutsorten imstande sind, das menschliche Isoagglutinin β zu absorbieren; 2) daß Rindersera gegen die Bestandteile A oder B des menschlichen Blutes gerichtete Agglutinine besitzen; 3) daß manche Rinderblutsorten durch manche Menschensera agglutiniert werden, ohne daß im Serum besondere gegen diese Blutsorten gerichtete Agglutinine durch Absorption nachgewiesen werden konnten.

Ueber die Beziehung der spezifisch auf Blut der B-Gruppe wirkenden Agglutinine der tierischen Sera zu den Isoagglutininen des menschlichen Serums.

Nach der für die bis jetzt beobachteten Isoantikörper geltenden Regel finden sich im Serum nie Antikörper die gegen das eigene Blut gerichtet sind. Ausgenommen ist paroxysmale Hämoglobinurie nach Landsteiner¹⁾, sowie einige von Eisenberg (zitiert nach Landsteiner) beschriebene Fälle von Lebercirrhose. Um so auffallender war die Tatsache, daß die meisten Tiere die Struktur B im Blut besitzen und gleichzeitig im Serum auf Blutsorten der B-Gruppe mehr oder

1) Handbuch der Biochemie, herausg. von Oppenheimer.

weniger stark wirkende Agglutinine. Die folgenden Versuche beweisen, daß die im tierischen Serum auf Menschenblut der Gruppe B wirkenden Agglutinine durch tierische Blutsorten nicht absorbiert werden können. Eine scharfe Grenze zwischen den Agglutininen der menschlichen und tierischen Seren läßt sich jedoch nicht ziehen, da, wie erwähnt, aus manchen menschlichen Seren sich das Agglutinin durch tierisches Blut ebenfalls nicht absorbieren läßt. Bei der Untersuchung einer großen Reihe von Personen der B-Gruppe findet man oft, daß das eine oder andere Blut durch das tierische Serum nicht agglutiniert wird, was ebenfalls gegen die Identifizierung beider Agglutinine spricht.

Protokoll.

	Blut A	Blut B
Serum Brockmann	+	+
" " —Hund Vater	+	0
" " —Großer Pintscher	+	0
" " —Hund 17	±	0
" " —Rind A	+	0
" " — " B	+	0
" " — " C	+	0

	Blut A	Blut B
Serum Ziege—Blut Hirschfeld (O)	+ b. ±	+
" " — " " " Hund 17	+	+
" " — " " " Hund Vater	+	+ b. ±
" " — " " " Großer Pintscher	+	+ b. ±
" Ziege Jung—Blut "Karl (Ö)	+ b. ±	+
" " — " " " —Hund Vater	+ b. ±	+
" Katze I—Blut "Hirschfeld" (O)	++	+
" " I— " " " —Hund Vater	++	+
" " I— " " " — " 17	++	+
" " I— " " " —Rind A	++	+
" " I— " " " — " B	++	+
" Pferd—Blut "Karl (Ö)	+	+ b. ±
" " — " " " —Hund Vater	+ b. ±	±
" " — " " " —Großer Pintscher	+	+ b. ±
" " — " " " —Rind A	+	+ b. ±
" " — " " " — " B	+	+ b. ±
" " — " " " — " C	+	+ b. ±

Die Beziehung der Vogelblutsorten zu den menschlichen Agglutininen α und β .

Die mit vier Gänse- und zwei Entebloodsorten angestellten Versuche haben ergeben, daß das Vogelblut nicht imstande

ist, aus dem menschlichen Serum die Isoagglutinine α und β zu absorbieren.

Protokoll.

		Blut A Ludwig	Blut B Deetjen			Blut A Ludwig	Blut B Deetjen
S. Brockm.		+	+	S. Hirschf.		+ b. \pm	\pm
" "	— Gans 1	+	+	" "	— Gans 1	+ b. \pm	\pm
" "	— " 2	+	+	" "	— " 2	+ b. \pm	\pm
" "	— " 3	+	+	" "	— " 3	+ b. \pm	\pm
" "	— " 4	+	+	" "	— " 4	+ b. \pm	\pm
" "	— Ente 1	+	+ b. \pm	" "	— Ente 1	\pm	\pm
" "	— " 2	+	+ b. \pm	" "	— " 2	\pm	\pm

Die wenigen mit Vogelseren angestellten Absorptionsversuche ergaben, daß die meisten Vogelsera nach der Absorption mit Menschenblut der O-Gruppe meistens noch die Menschenblutsorten der Gruppe A und B agglutinieren. Ich konnte mich überzeugen, daß das auf Menschenblut der Gruppe B wirkende Agglutinin durch Säugetierblut, das β absorbiert, nicht gebunden wird.

Protokoll.

		Blut A Anna	Blut B Deetjen
Serum Gans — Blut Brockmann (O)		+	+ b. \pm
" Ente — " "		\pm	\pm
" Taube — " "		0	0
" Huhn — " "		+	\pm

Ueber die Differenzierung der Gänseblutsorten durch artfremde Sera habe ich wenige Absorptionsversuche angestellt, die negativ verliefen.

Protokoll.

	Gans 1	Gans 2	Gans 3	Gans 4
Serum Brockmann — Gans 1	0	0	0	0
" " — " 2	0	0	0	0
" " — " 3	0	0	0	0
" " — " 4	0	0	0	0
Serum Hirschfeld — Gans 1	0	0	0	0
" " — " 2	0	0	0	0
" " — " 3	0	0	0	0
" " — " 4	0	0	0	0

	Gans 1	Gans 2	Gans 3	Gans 4
Serum Huhn—Gans 1	0	0	0	0
" " — " 2	0	0	0	0
" " — " 3	0	0	0	0
" " — " 4	0	0	0	0
Serum Pferd—Gans 1	0	0	0	0
" " — " 2	0	0	0	0
" " — " 3	0	0	0	0
" " — " 4	0	0	0	0
Serum Rind—Gans 1	0	0	0	0
" " — " 2	0	0	0	0
" " — " 3	0	0	0	0
" " — " 4	0	0	0	0

Es ist somit vor allem zu konstatieren, daß im Gegensatz zum Säugetierblut das Vogelblut das Isoagglutinin β nicht absorbiert.

Untersuchungen über die Spezifität der normalen Hämagglutinine.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß die Blutkörperchen verschiedener Tierarten ein und dasselbe Agglutinin aus dem menschlichen Serum zu absorbieren imstande sind. Dieser Befund widersprach der von Malkoff aufgestellten Regel, die eine strenge Spezifität der gegen verschiedene Blutkörperchenarten gerichteten Agglutinine voraussetzt. Malkoff¹⁾ hat die normalen Sera von Ziege, Pferd und Kaninchen untersucht, diese mit je 3 Blutsorten absorbiert und gefunden, daß nach der Absorption mit einer Blutsorte die Stärke der Agglutination für andere unverändert blieb. Seine Befunde sind von Landsteiner²⁾, Rissling³⁾ bestätigt worden. Landsteiner⁴⁾, der an der Richtigkeit der von Malkoff angenommenen Vielheit der Agglutinine zweifelte, konnte bei einer anderen Versuchsanordnung nachweisen, daß das durch eine gewisse Blutsorte gebundene Agglutinin auch auf andere Blutsorten einzuwirken imstande ist. Unsere Untersuchungen bestätigten im Prinzip die Annahme von Landsteiner⁵⁾, daß

- 1) Deutsche med. Wochenschr., 1910.
- 2) Wiener klin. Wochenschr., 1902.
- 3) Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 44.
- 4) Münch. med. Wochenschr., 1902.
- 5) l. c.

die Blutkörperchen verschiedener Tierarten gleichartige Rezeptoren haben können. Es war daher angezeigt, die Untersuchungen von Malkoff¹⁾ in größerem Maßstabe und vor allem auch unter Berücksichtigung der individuellen Differenzen wieder aufzunehmen.

Zuerst untersuchte ich die Menschensera in bezug auf die Artspezifität der in ihnen enthaltenen Agglutinine. Es wurden 8 Menschensera mit Blutkörperchen von 3 Kaninchen, 3 Rindern, 3 Hunden, 1 Fuchs, 2 Hammeln, 1 Meerschweinchen, 2 Schweinen, 1 Katze und 1 Ziege untersucht. Ich bestimmte zuerst die Wirksamkeit des Serums vor der Absorption, dann absorbierte ich die Sera mit einer der genannten Blutsorten und prüfte, nachdem ich mich von der Unwirksamkeit des Serums gegenüber dem zur Absorption benutzten Blut überzeugt hatte, auf seine Wirksamkeit für andere Blutsorten. Ganz kleine Abschwächung der Agglutination, etwa von ++ auf +, von + auf \pm , wurde nicht berücksichtigt, da diese kleinen Unterschiede durch die Verdünnung des Serums bei der Absorption hervorgerufen werden können. Die Technik entsprach der bei früheren Versuchen beschrieben.

Protokoll.

	Kaninchen	Rind	Hund 21	Schwein
Serum Brockmann ($\alpha + \beta$)	++	0	++	++
„ „ — Kaninchen	0	0	0	0
„ „ — Rind	\pm	0	0	\pm b. +
„ „ — Hund 21	+	0	0	\pm
„ „ — Schwein	\pm	0	0	0
Serum Patient (β)	+ b. \pm	0	++	++
„ „ — Kaninchen	0	0	0	0
„ „ — Rind	\pm	0	0	0
„ „ — Hund 21	\pm	0	0	\pm b. +
„ „ — Schwein	\pm b. \pm	0	0	0
Serum Kristine (α)	++	0	+	++
„ „ — Kaninchen	0	0	0	\pm
„ „ — Rind	\pm b. +	0	0	\pm
„ „ — Hund 21	+ b. \pm	0	0	+ b. \pm
„ „ — Schwein	\pm	0	0	0
Serum Plenge (O)	++	0	+	+
„ „ — Kaninchen	0	0	0	0
„ „ — Rind	\pm b. +	0	0	0
„ „ — Hund 21	+ b. \pm	0	0	0
„ „ — Schwein	\pm	0	0	0

1) l. c.

	Rind	Hund	Ziege	Katze
Serum Marie (β)	+	+	0	+ b. ±
Serum Marie—Kaninchen	0	0	0	0
„ „ —Rind	0	0	0	0
„ „ —Hund	0	0	0	0
„ „ —Ziege	±	±	0	0
„ „ —Katze	± b. ±	± b. ±	0	0

	Hund	Fuchs
Serum Haase (β)	+	+ b. ±
„ „ —Hund	0	0
„ „ —Fuchs	± b. ±	0

	Kanin- chen St.	Hammel 1	Hammel 2	Hund 27	Meer- schwein- chen	Gans 1	Gans 2	Ente 1	Ente 2	Taube
Ser. Fritz	++	±	±	+	+ b. ±	+ b. ±	+ b. ±	+	+	±
„ „ —Kaninchen St.	0	0	0	0	0	+ b. ±	+ b. ±	+	+	±
„ „ —Hammel 1	+	0	0	+	0	+ b. ±	+ b. ±	+	+ b. ±	±
„ „ —Hammel 2	+	0	0	±	0	±	±	+	+ b. ±	±
„ „ —Hund 27	+ b. ±	0	0	0	0	+ b. ±	+ b. ±	+	+ b. ±	±
„ „ —Meerschw.	+	0	0	± b. ±	0	+ b. ±	+ b. ±	+ b. ±	+ b. ±	±
„ „ —Gans 1	++	± b. ±	± b. ±	+	+ b. ±	0	0	0	0	±
„ „ —Gans 2	++	±	±	+	+ b. ±	0	0	±	± b. ±	±
„ „ —Ente 1	++	±	±	+ b. ±	+ b. ±	0	0	0	0	±
„ „ —Ente 2	++	±	±	+ b. ±	±	0	0	0	0	±
„ „ —Taube	++	± b. ±	± b. ±	+	+ b. ±	±	± b. ±	+ b. ±	±	0

Die Versuche zeigen, daß die Normalagglutinine der menschlichen Sera nicht artspezifisch sind. Ich konnte meistens nach der Absorption mit einem tierischen Blut eine starke Abschwächung oder sogar vollkommenes Verschwinden der Agglutinine für manche anderen Säugetierblutsorten konstatieren. So absorbierte das Blut eines Kaninchens das Agglutinin auch für 2 Hammel, 2 Hunde, Meerschweinchen, nicht aber für 2 Gänse, 2 Enten und 1 Taube. Das Rinderblut entzieht den Seren Agglutinine auch für Hunde, Schwein und Kaninchen. Das Blut eines Hundes absorbiert Agglutinin für Rind, Katze, Schwein, Meerschweinchen und Hammel, nicht aber für die untersuchten Vogelblutsorten (Gans, Ente, Taube). Das Schweineblut absorbierte auch das Agglutinin für Hund und Kaninchen. Das Blut einer Katze absorbierte teil-

weise auch Agglutinine für Hunde- und Rinderblut. Wie die Protokolle zeigen, konnte ich dasselbe Verhalten wiederholt und bei verschiedenen Individuen verschiedener Gruppen in gleicher Weise konstatieren. Bemerkenswert war der gleichzeitig erhobene Befund, daß die nach der Absorption mit verschiedenen Säugetierblutsorten zurückbleibenden Agglutinine das Vogelblut stark agglutinierten. Wie die Versuche mit Serum Hirschfeld und Serum Fritz zeigen, sind die Agglutinine für die untersuchten Vogelblutsorten nicht spezifisch. In allen Fällen bewirkte die Absorption der menschlichen Sera mit Gänseblut eine Abschwächung der Agglutinine für Entenblut und vice versa. Aus manchen Seren (Hirschfeld) absorbierte das Taubenblut auch Agglutinine für Gänseblut.

Im Versuch mit Serum Fritz und Hirschfeld habe ich menschliche Sera gleichzeitig mit verschiedenen Säugetier- und Vogelblutsorten absorbiert.

Protokoll.

	Kaninchen St.	Hammel 1	Hund 27	Meersch.	Gans 1	Gans 2	Ente 1	Taube
Serum Hirschfeld ($\alpha + \beta$)	++	0	++	±	+ b. ±	+ b. ±	+	+ b. ±
Ser. Hirschf.—Kaninchen	0	0	0	±	+ b. ±	+ b. ±	+	±
" " —Hammel 1	±	0	+ b. ±	0	+ b. ±	±	+	+ b. ±
" " —Hund 27	±	0	0	0	+ b. ±	±	+	+ b. ±
" " —Meersch.	+	0	±	0	±	±	+	+ b. ±
" " —Gans 1	++	0	+	±	0	0	±	+ b. ±
" " —Gans 2	++	0	++	±	0	0	+ b. ±	+ b. ±
" " —Ente	++	0	++	±	0	0	0	+ b. ±
" " —Taube	++	0	++	±	0	0	+ b. ±	0

Die Protokolle zeigen, daß, während nach Absorption mit dem Blut eines Säugetieres die Agglutinine für manche, wenn auch nicht alle Säugetiere, sowie nach Absorption mit manchen Vogelblutsorten Agglutinine für manche Vogelblutsorten verschwinden, bleiben nach der Absorption mit Säugetierblut Agglutinine für Vogelblut ungeschwächt im Serum zurück und auch vermag das Vogelblut dem menschlichen Serum Agglutinine für Säugetierblut nicht zu entziehen.

Die auf die fremden Säugetierblutsorten wirkenden Agglutinine des Menschenserums sind von der Anwesenheit der

Isoagglutinine α und β unabhängig. Die Sera ohne Isoagglutinine (Plenge) agglutinieren nämlich verschiedene Blutsorten, und auch die Wegnahme von den Agglutininen α und β aus dem Serum Hirschfeld übt keine Wirkung auf die Stärke der Agglutination der tierischen Blutsorten aus.

Protokoll.

	Kaninchen	Schwein	Hund 21
Serum Plenge (O)	+	+ b. \pm	+ b. \pm

	Kaninchen	Schwein	Hund 21
Serum Hirschfeld ($\alpha + \beta$)	++	++	++
Serum Hirschfeld—Blut A—Blut B	++	++	++

Die Versuche zeigen somit, daß die Agglutinine der Menschensera nicht artspezifisch sind. Vielmehr umfassen sie mehr oder weniger große Gruppen, wobei nie ein Vogelblut ein Agglutinin für Säugetierblut oder umgekehrt zu binden imstande ist. Die auf verschiedene Säugetierblutsorten wirkenden Agglutinine des Menschen-serums sind von der Anwesenheit der Isoagglutinine α und β unabhängig.

Weiter habe ich die Sera von Pferd, Rind, Hund und Ziege mit den Blutsorten von 2 Kaninchen, 1 Rind, 1 Hund, 1 Schwein und 1 Ziege untersucht. Ich konnte insofern die Malkoffschen¹⁾ Versuche bestätigen, als die Agglutinine für die verschiedenen Säugetierblutsorten spezifisch waren. Die Untersuchungen dieser Sera mit Vogelblutsorten ergaben dagegen ein anderes Resultat. So absorbierte das Entenblut ein Agglutinin für Gänseblut, Taube absorbiert aus einem Rinderserum teilweise Agglutinine für Gans und Ente, das Ziegenserum beeinflusste nach Absorption mit Hühnerblut das Gänseblut deutlich schwächer. Die gleichzeitig vorgenommenen Untersuchungen mit Säugetierblut konnten regelmäßig die oben erwähnten Ergebnisse bestätigen. Lediglich in einem Falle habe ich nach Absorption des Pferdeserums mit Hundeblut eine Abschwächung für Taubenblut gesehen.

1) l. c.

Protokoll.

	Hund 2	Kan.	Rind	Schwein	Hund 1
Serum Hirschfeld (Mensch)	++	++	0	++	++
" " — Kaninchen	0	0	0	0	0
" " — Rind	0	±	0	0	0
" " — Schwein	0	±	0	0	0
" " — Hund 1	0	+ b. ±	0	0	0
" " — Hund 2	0	+ b. ±	0	0	0
Serum Haase (Mensch)	++	++	0	++	++
" " — Kaninchen	0	0	0	±	0
" " — Rind	0	±	0	± b. +	0
" " — Schwein	0	+ b. ±	0	0	0
" " — Hund 1	0	+ b. ±	0	±	0
" " — Hund 2	0	+ b. ±	0	±	0
Serum Rind	+	+	0	+ b. ±	±
" " — Kaninchen	+ b. ±	0	0	±	±
" " — Rind	+ b. ±	+	0	±	±
" " — Schwein	+ b. ±	+	0	0	+ b. ±
" " — Hund 1	0	+ b. ±	0	+ b. ±	0
" " — Hund 2	0	+	0	+ b. ±	0
Serum Schwein	±	+ b. ±	0	0	±
" " — Kaninchen	±	0	0	0	±
" " — Rind	±	±	0	0	±
" " — Schwein	±	±	0	0	±
" " — Hund 1	0	±	0	0	±
" " — Hund 2	0	±	0	0	±
Serum Hund	0	+ b. ±	0	+ b. ±	0
" " — Kaninchen	0	0	0	+ b. ±	0
" " — Rind	0	±	0	+ b. ±	0
" " — Schwein	0	+	0	0	0
" " — Hund	0	+	0	+	0

	Kan.	Hund 27	Gans	Ente	Taube
Serum Pferd	+	±	++	++	++
" " — Kaninchen	0	±	++	++	++
" " — Hund	+ b. ±	0	++	++	+ b. ±
" " — Gans	+ b. ±	±	0	+ b. ±	+
" " — Ente	±	± b. ±	+ b. ±	0	++
" " — Taube	±	± b. ±	++	++	0
Serum Hund	±	± b. ±	+	++	±
" " — Kaninchen	0	± b. ±	+	++	±
" " — Hund 27	±	0	+	++	±
" " — Gans	±	± b. ±	0	±	±
" " — Ente	±	± b. ±	±	0	±
" " — Taube	±	± b. ±	+	+	0
Serum Rind	±	±	++	++	+
" " — Kaninchen	0	±	++	++	+
" " — Hund	±	0	++	++	+ b. ±
" " — Gans	±	±	0	±	+
" " — Ente	±	±	±	0	+
" " — Taube	±	±	+ b. ±	+ b. ±	0

	Gans 1	Gans 2	Ente 1	Ente 2
Serum Hund	++	++	++	++
" " —Gans 1	0	0	±	±
" " —Gans 2	0	0	±	+ b. ±
" " —Ente 1	±	±	0	0
" " —Ente 2	±	±	0	0
Serum Pferd	++	++	++	++
" " —Gans 1	0	0	+ b. ±	+ b. ±
" " —Gans 2	0	0	±	+ b. ±
" " —Ente 1	±	+ b. ±	0	0
" " —Ente 2	+ b. ±	+	0	0

	Kanin- chen (rot)	Rind	Hund 27	Schwein	Ziege	Gans	Ente	Huhn
Serum Pferd	±	±	0	0	0	++	++	+ b. ±
" " —Kaninchen (rot)	0	±	0	0	0	+	+	+ b. ±
" " —Rind	±	0	0	0	0	+	++	+ b. ±
" " —Schwein	±	±	0	0	0	++	++	+ b. ±
" " —Ziege	±	±	0	0	0	++	++	±
" " —Gans	±	±	0	0	0	0	+	+ b. ±
" " —Ente	±	±	0	0	0	±	0	±
" " —Huhn	±	±	0	0	0	++	++	0
Serum Ziege	+ b. ±	±	±	0	0	++	++	+
" " —Kaninchen (rot)	0	±	±	0	0	++	++	+
" " —Rind	±	0	±	0	0	++	++	+
" " —Schwein	±	±	±	0	0	++	++	+ b. ±
" " —Ziege	±	±	±	0	0	++	++	+
" " —Ente	±	±	±	0	0	+ b. ±	0	+ b. ±
" " —Huhn	±	±	±	0	0	+ b. ±	++	0

Die Untersuchungen zeigen somit, daß die Agglutinine für die Blutsorten verschiedener Säugetiere bei Säugetierseren artspezifisch sind, während die verschiedenen Vogelblutsorten die normalen Agglutinine oft gegenseitig absorbieren.

Weiter untersuchte ich die Vogelseren (Huhn, Gans, Ente) mit Blut von Mensch, Kaninchen, Rind, Hund, Schwein, Ziege, Gans und Ente. Das Blut eines Kaninchens absorbierte Agglutinine für Hund und Schwein, teilweise auch für Rind, nicht aber für Gans und Ente. Das Blut eines Rindes absorbierte Agglutinine für Hund und Schwein, teilweise für Kaninchen, nicht für Gans und Ente. Das Blut Schwein ab-

sorbierte Agglutinin für Hundeblut, teilweise für Kaninchen und Rinderblut. Ziegenblut vermochte das Agglutinin nicht zu absorbieren. Die Agglutinine für die betreffenden Säugetiere wurden weder von Gänse- noch von Entenblut absorbiert. Dagegen entzog das Gänseblut das Agglutinin für Entenblut und umgekehrt.

Protokoll.

	Kaninchen	Rind	Hund	Schwein	Gans	Ente
Serum Huhn	++	++	+	+ b. ±	+ b. ±	+ b. ±
" " — Kaninchen	0	+ b. ±	0	0	+ b. ±	+ b. ±
" " — Rind	+ b. ±	0	0	0	±	+ b. ±
" " — Schwein	±	±	0	0	+ b. ±	+ b. ±
" " — Gans	++	++	+	+ b. ±	0	0
" " — Ente	++	++	+	±	0	0

	Kaninchen	Rind	Hund 27	Schwein
Serum Gans	+ b. ±	+ b. ±	+ b. ±	0
" " — Kaninchen	0	0	0	0
" " — Rind	±	0	0	0
" " — Schwein	±	0	0	0
" " — Ziege	+ b. ±	±	+ b. ±	0

Die Protokolle zeigen somit, daß die Agglutinine des untersuchten Vogelserums (Huhn) weder für die untersuchten Säugetiere, noch für die untersuchten Vogelblutsorten artspezifisch sind. Das Agglutinin für Säugetierblut wird aber durch Vogelblut und das Agglutinin für Vogelblut durch Säugetierblut nicht absorbiert.

Die früher angegebenen Versuche zeigen, daß das Menschenserum unter den Seren der Säugetiere eine Ausnahmestellung einnimmt. Während die Agglutinine für die verschiedenen Säugetierblutsorten bei den Seren der anderen untersuchten Säugetiere artspezifisch sind, besitzen die Menschenseren Agglutinine, welche mit mehreren Arten in gleicher Weise reagieren. Es war daher von großem Interesse, zu untersuchen, ob auch das Menschenblut sich anders verhält, wie die anderen untersuchten Blutsorten. v. Dungern und

Hirschfeld¹⁾ haben in ihren letzten Mitteilungen über Beobachtungen berichtet, die dem oben erwähnten Verhalten der Säugetiersera widersprachen. Während die Absorption der tierischen Sera mit tierischem Blut meistens die Agglutinine auf Menschenblut nicht beeinflußt, konnten sie bei einem Rinderserum beobachten, daß das Serum nach der Absorption mit verschiedenen Tierblutsorten auf mehrere menschliche Blutsorten viel schwächer wirkte. Ich konnte bei einem Pferdeserum ähnliche Befunde erheben. In diesem Falle absorbierte das Rinder- und Hundeblut teilweise das Agglutinin für das untersuchte Menschenblut. Bei einem Gänseserum war für Rind-, Hund- und Schweineblut ein gemeinsames Agglutinin vorhanden, dagegen vermochten die genannten Blutsorten das auf Menschenblut wirkende Agglutinin nicht zu absorbieren. Im anderen Falle hat aus dem Hühnerserum das Menschenblut teilweise Agglutinin für Kaninchenblut absorbiert. Die Absorption des Serums Ente mit Blutsorten Kaninchen, Meerschweinchen, Hammel, Hund hat eine deutliche Abschwächung der Agglutination für Menschenblut bewirkt.

Protokoll.

	Mensch	Rind	Hund	Schwein
Serum Pferd	++	0	+ b. ±	±
" " —Mensch	0	0	+ b. ±	±
" " —Rind	±	0	+ b. ±	±
" " —Hund	+ b. ±	0	0	±
" " —Schwein	+	0	+ b. ±	0
" Gans	±	0	+ b. ±	+ b. ±
" " —Mensch	0	0	+ b. ±	+ b. ±
" " —Rind	±	0	0	0
" " —Hund	±	0	0	0
" " —Schwein	±	0	0	0

	Mensch	Kaninchen	Rind	Hund
Serum Huhn	± b. ±	++	0	+
" " —Mensch	± b. ±	+ b. ±	0	+ b. ±
" " —Kaninchen	± b. ±	0	0	0
" " —Rind	± b. ±	0	0	0
" " —Hund	± b. ±	±	0	0

1) l. c.

	Mensch 1	Mensch 2	Kaninchen	Hund	Katze
Ser. Ente	\pm 0	\pm 0	+	+ b. \pm	\pm b. \pm 0
" " —Mensch 1	0	0	+ b. \pm	\pm	0
" " —Mensch 2	0	\pm b. \pm	0	0	0
" " —Kaninchen	0	\pm b. \pm	0	0	0
" " —Meerschweinchen	\pm 0	\pm b. \pm	\pm	\pm	0
" " —Katze	0	0	\pm	0	0
" " —Hammel	\pm b. \pm	\pm b. \pm	0	0	0
" " —Hund					

Die Versuche zeigen, daß manche tierische Sera nach der Absorption mit tierischem Blut manche Menschenblutsorten schwächer agglutinieren als vor der Absorption.

Es ist somit zu konstatieren, daß Säugetiersera meistens artspezifische Normalagglutinine für Säugetierblut, nicht aber für Vogelblut besitzen. Die Vogelsera enthalten weder für Säugetier- noch für Vogelblut artspezifische Agglutinine. Vielmehr umfassen sie, ähnlich wie die Agglutinine des Menschenserums, mehr oder weniger große Gruppen, wobei nie ein Vogelblut ein Agglutinin für Säugetierblut oder umgekehrt zu binden imstande ist. Unter den Säugetieren bildet lediglich das Menschenserum eine Ausnahme, indem seine Agglutinine für Säugetierblut nicht artspezifisch sind.

Untersuchungen über die Spezifität der Immunagglutinine.

Es war nun von großem Interesse, zu untersuchen, ob die Spezifität der immunisatorisch dargestellten Antikörper davon abhängt, in welchem Grade die Normalagglutinine artspezifisch sind. Ich nahm daher mehrere Immunisierungsversuche bei Tieren vor, bei welchen ich vor der Immunisierung die Normalagglutinine genau untersucht habe. Es wurde jedem Tier zweimal je 5 ccm Vollblut teils intraperitoneal, teils intramuskulär eingespritzt. Stärkere Agglutinine haben 3 Tiere geliefert: 2 Hühner und 1 Meerschweinchen.

Protokoll.

Serum Huhn (weiß) vor der Immunisierung agglutinierte:

	Gans	Hund
Serum Huhn weiß	++	+
Serum Huhn--Ente	+ b. ±	+

in der Verdünnung	1	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Blut Hund	+	+	+ b. ±	±	±	± b. +	0
„ Gans	++	+	+ b. ±	±	0		
„ Ente	++	+	±	± b. +	0		

Serum Huhn (weiß) nach der Immunisierung mit Blut Gans agglutinierte:

in der Verdünnung	1/1	1/4	1/16	1/32
Blut Hund	+ b. ±	±	0	
„ Gans	++	++	±	0
„ Ente	++	++	±	0

Serum Huhn (gelb) vor der Immunisierung agglutinierte:

	Kaninchen	Hund
Serum Huhn (gelb)	++	++
Serum Huhn--Kaninchen	0	±
„ „ --Hund	±	0

in der Verdünnung	1	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/64
Blut Kaninchen	++	+	+ b. ±	±	±	0	
„ Hund	+	±	±	± b. +	0		
„ Gans	+	+	+	+	+ b. ±	±	0

Serum Huhn (gelb) nach der Immunisierung mit Blut Kaninchen:

	Kaninchen	Hund
Serum Huhn (gelb)	++	++
Serum Huhn--Kaninchen	0	±
„ „ --Hund	+ b. ±	0

in der Verdünnung	1/1	1/4	1/16	1/32	1/64	1/128
Blut Kaninchen	++	++	+	+	±	0
„ Hund	++	+	±	0		
„ Gans	+	± b. +	0			

Serum Meerschweinchen vor der Immunisierung:

	Kaninchen	Hund
Serum Meerschweinchen	0	0

Serum Meerschweinchen nach Immunisierung mit Blut Hund:

in der Verdünnung	1	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$
Blut Kaninchen	\pm b. +	0		
„ Hund	+	+ b. \pm	\pm	0
„ Gans	0	0		

	Hund
Serum Meerschweinchen	+
Serum Meerschweinchen—Kaninchen	+

Es hat sich somit ergeben, daß ein Huhn (gelb), welches nichtspezifische Agglutinine für Hunde- und Kaninchenblut enthielt, nach der spezifischen Vorbehandlung mit Kaninchenblut auch Agglutinine für Hundeblut geliefert hat. Ähnliches Resultat habe ich nach Vorbehandlung des Huhnes (weiß) mit Gänseblut erzielt: es sind auch Agglutinine für Entenblut aufgetreten, dagegen hat das Huhn (gelb) keine Agglutinine für Gänseblut, Huhn (weiß) keine Agglutinine für Hundeblut geliefert. Ein Meerschweinchen, dessen Normalserum weder Kaninchen- noch Hundeblut agglutinierte, lieferte nach Vorbehandlung mit Hundeblut Agglutinine, die auf Kaninchenblut nur äußerst schwach einzuwirken imstande sind. Inwieweit die Spezifität der Immunantikörper mit der Spezifität der Normalagglutinine im Zusammenhang steht, läßt sich aus diesen wenigen Versuchen nicht entscheiden. Die erzielten Resultate stehen auch nicht im Einklang mit der von Uhlenhuth¹⁾ aufgestellten Regel, daß die naheverwandten Arten gegenseitig spezifische Antikörper liefern, da in unserem Fall Huhn unspezifische Agglutinine für Gänseblut geliefert hat. Da aber nach meinen Versuchen mit Normalagglutininen im Gänse- und Entenblut nur kleine Unterschiede fest-

1) Beiheft zur Med. Klinik, 1907.

gestellt waren, so daß eine biochemische Identität des Gänse- und Entenblutes nicht ausgeschlossen erscheint, möchte ich weitgehende Schlußfolgerungen aus diesen Versuchen nicht ziehen.

Zusammenfassung.

1) Sämtliche untersuchten Hundebloodsorten entzogen manchen menschlichen Seren das Isoagglutinin β , lediglich eine Bloodsorte absorbiert in schwachem Grade auch das Isoagglutinin α .

2) Die Hundesera besaßen meistens gegen die Struktur A oder B des menschlichen Blutes gerichtete Agglutinine.

3) Durch Absorption mancher menschlichen Sera mit manchen Hundebloodsorten ließen sich spezifische Strukturen des Hundebloodes nachweisen. Diese spezifischen Strukturen hängen mit der Struktur A und Nicht-A, B und Nicht-B nicht zusammen. Eine gruppenspezifische Differenzierung mit Hilfe der tierischen Sera gelang nur in seltenen Fällen.

4) Die durch die Absorptionsmethode spezifisch darstellbaren Strukturen hängen mit denen, die die Isoantikörperbildung bedingen, häufig nicht zusammen.

5) Das mit den Isoantikörpern gleichzeitig im Serum des Hundes entstandene, auf die menschliche Bloodsorte der Gruppe B spezifisch wirkende Agglutinin wird durch das Blut, welches zu ihrer Bildung Veranlassung gab, nicht absorbiert.

6) Die Rinderbloodsorten absorbieren aus dem menschlichen Serum das Isoagglutinin β . Die Rindersera besitzen meistens gegen die Bestandteile A oder B des Menschenblutes gerichtete Agglutinine.

7) Manche Rinderbloodsorten werden im Gegensatz zu den anderen durch manche Menschensera agglutiniert, ohne daß in diesen Bloodsorten gruppenspezifische Strukturen nachgewiesen werden konnten.

8) Die Vogelbloodsorten (Gans, Ente) absorbieren weder α noch β aus dem menschlichen Serum. Die Vogelsera besitzen im Serum meistens gegen A oder B des Menschenblutes gerichtete Agglutinine.

8*

9) Das im tierischen Serum befindliche, auf Menschenblut der B-Gruppe spezifisch wirkende Agglutinin ist mit dem menschlichen Isoagglutinin β nicht identisch.

10) Die Agglutinine des Menschenserums sind für Säugetierblut einerseits, für Vogelblut andererseits nicht artspezifisch. Vielmehr umfassen sie einzelne Gruppen von Säugetier- und Vogelblutsorten, wobei ein Säugetierblut für Vogelblut und umgekehrt das Agglutinin nicht absorbiert. Die auf verschiedene Säugetierblutsorten wirkenden Agglutinine des Menschenserums sind von der Anwesenheit α und β unabhängig.

11) Säugetiersera enthalten in der Regel für Säugetierblut artspezifische Agglutinine. In einigen Fällen wurde das auf Menschenblut wirkende Agglutinin durch Rinder- und Hundeblood absorbiert.

12) Vogelsera besitzen keine artspezifischen Agglutinine für Vogel- und Säugetierblut. Das Agglutinin für Säugetierblut wird vom Vogelblut nicht absorbiert und umgekehrt wird das Agglutinin für Vogelblut durch Säugetierblut nicht beeinflusst.

13) Die durch Immunisierung des Huhnes mit Kaninchenblut erzielten Agglutinine wirken in gleicher Weise auf Hundeblood, nicht auf Gänseblut, die für Gänseblut erzielten auch auf Entenblut, nicht aber auf Hundeblood. Das Meerschweinchen hat nach der Vorbehandlung mit Hundeblood spezifische Agglutinine für Hundeblood geliefert. Es scheint demnach, daß die Spezifität der immunisatorisch dargestellten Antikörper mit der Spezifität der normalen Antikörper im Zusammenhang steht.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. IX. No. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien;
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Experimentelle Beiträge zur Frage der Schutzimpfung bei Poliomyelitis acuta.

Von Prof. R. Kraus.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1910.)

I.

In einer früheren Mitteilung¹⁾ wurde berichtet, daß es gelingt, nach subkutaner einmaliger Injektion mittels karbolisierter virushaltiger Emulsion (von Gehirn und Rückenmark von Makaken, die an experimenteller Poliomyelitis zugrunde gingen) gesunde Makaken gegen eine nachträgliche cerebrale Infektion zu schützen.

Den Ausgangspunkt für diese Versuche bildete die von Flexner, Levaditi und Landsteiner, Leiner und v. Wiesner, Römer und Joseph beobachtete Erscheinung, daß Makaken, die nach der Infektion erkrankten, aber wieder gesund geworden sind, gegen eine zweite Infektion refraktär waren.

Die von uns mitgeteilten Versuche mußten fortgesetzt werden, wenn man über diese Art der Schutzimpfung zu einem abschließenden Urteil gelangen sollte. Es war unter anderem notwendig, die Dosis der Karbolsäure zu variieren, auch die Zeit, wie lange Karbolsäure eingewirkt haben muß, um das Virus abzutöten, mußte ermittelt werden.

Wie die Versuche mit Karbolsäure lehren, können größere Mengen von Emulsion, die mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt sind, selbst nach 5-tägiger Einwirkung bei subkutaner Einverleibung infektiös sein. Die derart erzeugte Krankheit verläuft allerdings gewöhnlich sehr langsam, ist häufig bloß auf

1) Wiener klin. Wochenschr., 1910; Medizin. Klinik, 1910; Centralbl. f. Bakt., 1910, Beiheft.

eine Extremität beschränkt und bleibt lange Zeit stationär, ohne Fortschritte zu machen. Einzelne Tiere gehen im Gegensatz zu Kontrolltieren erst nach 3—4 Wochen zugrunde. Nur in zwei Fällen erfolgte eine Infektion, die den typischen Verlauf hatte.

Diese Versuche sprechen also dafür, daß es nicht gelingt, in konstanter Weise mit 0,5 Proz. Karbolsäure selbst nach Einwirkung von 5 Tagen das Virus sicher abzutöten, wohl aber häufig abzuschwächen. In vielen Fällen (6 Versuche), wie wir später noch sehen werden, hat das mit 0,5 Proz. Karbolsäure versetzte Virus nach subkutaner Injektion keine Infektion der Tiere zur Folge gehabt, trotzdem die Karbolsäure auch kürzere Zeit als 5 Tage eingewirkt hatte. Jedenfalls ist der Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure ungenügend, um mit absoluter Sicherheit die Emulsionen avirulent zu machen. Daß 0,5 Proz. Karbolsäure zur Abtötung eines verdünnten und durch Papier filtrierten Virus schon ausreichen könnten, wäre wohl möglich, doch haben wir in diesen Versuchen zumeist konzentrierte, und nicht immer durch Papier filtrierte Emulsionen verwendet. Daraus erklären sich wohl auch die unsicheren Resultate, d. h. daß das Virus einmal abgetötet war, ein andermal aber nicht. In den weiteren Versuchen wurde aus diesem Grunde mehr Karbolsäure verwendet. Das mit 1 Proz. Karbolsäure versetzte Virus war nach 24-stündiger und 3-tägiger Einwirkung noch virulent, nicht aber nach 4- und 5-tägiger Einwirkung. Weder die subdurale noch die subkutane Prüfung führte zu einer Infektion.

Versuche mit Karbolsäure.

1. Versuch.

a) Nicht filtriertes Virus (Gehirn, Rückenmark), in physiol. Kochsalzlösung emulgiert, versetzt mit Karbolsäure 0,5 Proz., nach 5 Tagen (bei niedriger Temperatur) subdural Macacus 41 am 16. II., erst am 6. III. beginnende Parese des linken Armes, 7. III. Parese des linken Armes und rechten Beines, 20. III. Status idem, 28. III. †.

b) Nicht filtriertes Virus in physiologischer Kochsalzlösung, versetzt mit Karbolsäure 0,5 Proz., nach 5 Tagen (bei niedriger Temperatur) 10 ccm subkutan Macacus 34 am 2. V., nach 6 Tagen am 8. V. Tremor des Kopfes ohne sonstige Erscheinungen, 9. †.

2. Versuch.

Durch Papier filtrierte Emulsion, versetzt mit Karbolsäure 1 Proz., nach 24 Stunden (bei niedriger Temperatur) subdural Macacus 4 am 12. III., nach 10 Tagen Tremor des Kopfes, am 23. Paralyse †.

3. Versuch.

Durch Papier filtriertes Virus 1:10, versetzt mit Karbolsäure 1 Proz., nach 3 Tagen 12 ccm subkutan Macacus 34 am 13. V., nach 13 Tagen Parese des linken Oberarms, 27. V. Paralyse des rechten Oberarmes, 11. VI. Status idem, 8. VII. †.

4. Versuch.

- | | |
|--|--------------|
| a) Durch Papier filtriertes Virus, versetzt mit Karbolsäure 1 Proz., nach 4 Tagen bei niedriger Temperatur subdural Macacus 37 | } überleben. |
| b) Durch Papier filtriertes Virus, versetzt mit Karbolsäure 1 Proz., nach 6 Tagen 10 ccm subkutan Macacus I, Macacus II | |

Schon in der ersten Mitteilung sahen wir, daß die mit Karbolsäure (0,5 Proz.) versetzte Gehirn-Rückenmarkemulsion nach subkutaner Injektion imstande war, Tiere gegen eine nachträgliche subdurale Infektion mit Virus zu schützen. Und auch weitere Versuche in dieser Richtung, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, lehren das gleiche. 8 Tage nach der subkutanen einmaligen Injektion des karbolisierten Virus können die Makaken gegen eine subdurale Infektion geschützt sein.

Von 6 derart vorbehandelten Makaken ist bloß 1 Macacus nach cerebraler Infektion erkrankt. Während aber der Kontrollaffe 10 Tage nach der Infektion an Poliomyelitis unter allgemeiner Paralyse zugrunde ging, erkrankte der schutzgeimpfte 4 Tage später als der Kontrollaffe, und zwar mit Parese des rechten Hinterbeines, die stationär geblieben ist; nach 19 Tagen, ohne daß ein weiteres Fortschreiten der Lähmungen nachweisbar war, ging er zugrunde. Jedenfalls bestand ein abgeschwächter Verlauf der Erkrankung, ähnlich demjenigen, der nach Infektion mit Karbolsäure-versetztem Virus allein beobachtet werden konnte.

Wichtig ist allerdings für den Ausfall aller Versuche, daß zur subduralen Infektion filtrier-

tes Virus und auch verdünntes Virus verwendet wird. Wir haben bereits früher schon auf diesen Umstand aufmerksam gemacht und konnten auf Erfahrungen hinweisen, die wir bei unseren Studien über Schutzimpfungen gegen Lyssavirus gemacht haben. (Auch die zur subkutanen Schutzimpfung verwendeten Emulsionen sollen durch Papier filtriert sein, bevor sie mit Karbolsäure versetzt werden, da die groben Gewebstückchen im Innern Virus enthalten können, welches sich der Karbolwirkung entzieht und infektiös bleibt.)

Was die Dauer der Schutzimpfung betrifft, so sehen wir im Versuch 2 und 3 den Schutz nach 2 Monaten erloschen (allerdings hat im Versuch 3 zur dritten Reinfektion nicht-filtriertes konzentriertes Virus gedient). Auch nach 2 Monaten können Tiere geschützt sein, wie Versuch 3 zeigt, in welchem die Reinfektion nach 1 und 2 Monaten zu keiner Infektion geführt hat.

In den neueren Versuchen wurde statt 0,5 Proz. Karbolsäure 1—1½ Proz. zu der Gehirn-Rückenmarkemulsion zugesetzt und nach 6-tägiger Einwirkung subkutan Affen injiziert. Nach dem Ausgang dieser Versuche können wir die mit 1—1½ Proz. Karbolsäure 6 Tage lang versetzte Emulsion als unschädlich ansehen. Selbst Mengen von 10 ccm werden von Affen vertragen, ohne Infektion zu erzeugen. Die nach 14 Tagen und 2 Monaten später subdural infizierten und reinfizierten Affen überleben¹⁾. (Mengen von 5 ccm des karbolisierten Virus, subkutan injiziert, scheinen nicht immer ausreichend zu sein, da ein Affe an Poliomyelitis erkrankte und zugrunde ging. Die Frage der Menge des zu verwendenden Vaccins wäre noch weiter zu verfolgen.)

Jedenfalls zeigen die Versuche schon jetzt, daß 10 ccm des mit 1—1½ Proz. Karbolsäure versetzten Virus, subkutan injiziert, selbst gegen eine so intensive Infektion, wie es

1) Wenn nach Reinfektion die Tiere am Leben bleiben, so muß dies als ein Erfolg der Schutzimpfung angesehen werden, da eine vorausgegangene cerebrale Infektion allein, die zu einer Erkrankung nicht geführt hat, keine Immunität gegen eine zweite cerebrale Infektion zu erzeugen vermag. Auch Flexner gibt ähnliche Beobachtungen an.

die subdurale ist, schützen, ohne irgendwelche Schädigungen der Tiere zu bedingen.

Versuche über präventive Schutzimpfung mit
karbolisiertem Virus.

Emulsion von Gehirn und Rücken- mark	Menge der Karbolsäure	Dauer der Einwirkung	Menge des subk. injiz. karbol. Virus	Subdurale Infektion	Resultat	Kontrolle
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	5 Tg. bei n. T.	5,0 am 16. II.	konz., d. Papier filtr. Vir. a. 1. III.	überlebt	M. 37 inf. subd. 1. III. n. 7 Tg. Par. d. Hinterb. n. 8 Tg. Paral., n. 10 Tg. †
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	5 Tg. bei n. T.	8,0 am 16. II.	konz., d. Papier filtr. Vir. a. 1. II.	n. 11 Tg. Pa- rese der Hin- terb. 25. III., St. idem, 31. †	
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	3 Tg. bei n. T.	5,0 am 28. I.	konz. filtr. Virus am 5. II. Reinf. mit konz. filtr. Vir. a. 1. III. nach 2 Monaten	überlebt n. 7 Tg. Paral. d. vord. Extr. † n. 8 Tagen	
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	3 Tg. bei n. T.	6,0 am 3. I.	konz. filtr. Virus am 13. I. Reinf. mit nicht filtr. Vir. a. 5. II. Reinf. mit nicht filtr. Vir. a. 1. III.	überlebt überlebt überlebt	M. 37 inf. subd. 1. III., 8. III. Paral., 10. †
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	5 Tg. bei n. T.	5,0 am 3. I.	konz. filtr. Virus am 5. II. Reinf. mit konz. filtr. Vir. a. 1. III.	überlebt 10. III. Paral., 12. †	M. inf. subd. 13. I. Paral. †
konz., nicht filtr.	0,5 Proz.	5 Tg. bei n. T.	10,0 am 2. V.	konz. filtr. Virus am 2. VII.	überlebt	M. inf. subd. 2. VII., 11. Paral., 12. †
konz., nicht filtr.	1,0 Proz.	3 Tg. bei n. T.	5,0 am 14. III.	konz. filtr. Virus am 23. III. Reinf. 9. IV.	überlebt (29. IV. † ohne Erschg.)	
konz., nicht filtr.	1,0 Proz.	3 Tg. bei n. T.	5,0 am 14. III.	konz. filtr. 23. III.	3. IV. Paral., 11. IV. †	

Emulsion von Gehirn und Rückenmark	Menge der Karbolsäure	Dauer der Einwirkung	Menge des subkut. injiz. karbol. Virus	Subdurale Infektion	Resultat	Kontrolle
10,0 Gehirn-Rückenm.-Emuls 1:20, zentrifug. ob. Flüssigk.	1,0 Proz.	6 Tg. bei n. T.	10,0 am 23.VIII.	Virus filtr. 1:100 am 5. IX. Reinf. filtr. Virus 1:40 am 11. X.	überlebt 21. X. † ohne Erschg.	M.subd.11.X. 16.Paral.17.† dav. subd. M. 2, lebt. (Auch d.hist. Untersuchung des Rückenm. u. Geh. ist neg.)
dgl.	1,0 Proz.	6 Tg. bei n. T.	10,0 am 23.VIII.	Virus filtr. 1:100 am 5. IX. Reinf. filtr. Virus 1:40 am 11. X.	überlebt	
„	1,5 Proz.	6 Tg. bei n. T.	10,0 am 23.VIII.	Virus filtr. 1:100 am 5. IX. Reinf. filtr. Virus 1:40 am 11. X.	überlebt	

Möglicherweise liegt dieser Erfolg auch daran, daß wir in den letzten Versuchen nicht mehr große Mengen der konzentrierten Emulsionen mit Karbolsäure versetzt haben, sondern bloß 10 ccm der Verdünnung 1:20, die vorher noch durch Abzentrifugieren von den groben Gewebspartikelchen befreit wurde. Es ist, wie wir schon einmal betont haben, für die Bereitung des Vaccins notwendig, eine homogene, feine, verdünnte Emulsion zu bereiten, da in einer solchen Virus leichter abgetötet wird als in einer konzentrierten, welche grobe Partikel enthalten.

II.

In den folgenden Versuchen haben wir uns, wie es bereits Römer¹⁾, Flexner²⁾ getan haben, mit der Frage beschäftigt, ob eine aktive Schutzimpfung nicht möglicherweise durch eine passive mittels Immunserum ersetzt werden könnte. Da ja diese Versuche gleichzeitig praktische Zwecke verfolgen, so mußte daran gedacht werden, mittels eines Immunserums präventiven Schutz zu erzeugen. Es wurde

1) Römer, Münch. med. Wochenschr., 1910.

2) Flexner, The Journ. of the Amer. Med. Assoc., 1910.

ein Schaf¹⁾ durch 5 Monate subkutan mit Virusemulsionen von Gehirn-Rückenmark von Makaken behandelt; es erhielt 915 ccm Virusemulsion. (17 Tage nach der letzten Injektion wurde der Aderlaß gemacht.)

Die mit dem Serum in vitro angestellten Versuche lehren, daß Mengen von 0,05 ccm Verdünnungen des Virus 1:100 innerhalb von 24 Stunden zerstören. Das mit 0,05 normalem Serum oder mit Serum eines Schafes, welches Rückenmark von Kaninchen [die an fraglicher Poliomyelitis zugrunde gingen²⁾] erhielt, versetzte Virus wurde nicht abgetötet. Konform den Angaben von Levaditi und Landsteiner, Römer und Joseph, Flexner und Lewis können auch wir bestätigen, daß das Schaf nach Immunisierung mit dem Virus ein spezifisches Serum produziert.

Virizide Serumversuche in vitro.

1. Versuch.

0,5 V. M. filtr. 1:100 + 0,05 Ser. Schaf vorbeh. mit Kaninchengeh. (fragl. Poliom.), nach 24 Std. bei Ztp. subd. Mac. 45 am 8. V., 17. V. Paral. d. Hinterb., 6. VI. St. idem., 1. VII. St. id., 10. VIII. St. id.

0,5 V. M. filtr. 1:100 + 0,05 Ser. Schaf vorb. mit Makakenvir., n. 24 Std. bei Ztp. subd. Mac. 42 am 8. V., überlebt.

2. Versuch.

a) 1,0 V. M. filtr. 1:40 + 0,05 norm. Schafs., n. 24 Std. bei Ztp. subd. Mac. 24 am 19. X., am 25. X. Parl. d. l. ob. Extr., Tremor d. Kopfes, 26. †.

b) 1,0 V. M. filtr. 1:40 + 0,01 Schaf vorb. mit Makakenv., n. 24 Std. bei Ztp. subd. Mac. 1 am 19. X., 28. Tremor, 29. Parese d. Extr., 3. XI. Std. idem †.

c) Kontrolle subd. Virus filtr. 1:40 Mac. 47, 29. Paral., 1. †.

Eine weitere Frage war natürlich die, ob auch dieses Serum imstande sei, präventiv oder vielleicht kurativ zu wirken.

Zu diesem Zwecke wurde von diesem (in vitro in Mengen von 0,05 wirksamen Serum) peritoneal 10 ccm gesunden Makaken injiziert und nach 24 und 40 Stunden erfolgte die subdurale Infektion. Die Infektion erfolgte mit verdünntem filtriertem Virus subdural. Die Affen erkrankten typisch an

1) Diese Tierart liefert nach Vorbehandlung mit Lyssavirus ein sehr wirksames rabizides Serum.

2) Siehe Centralbl. f. Bakt., 1910, Beiheft; Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie.

Poliomyelitis und gingen typisch zugrunde sowie die Kontrolltiere.

Präventive Versuche mit Serum vom Schaf, vorbehandelt mit Makakenvirus¹⁾.

1. Versuch.

10 ccm Ser. peritoneal, n. 24 Std. subd. Vir. filtr. 1:50 am 17. VIII. Mac. 21, am 26. Lähmung d. hint. Extr., 27. Paral. †.

2. Versuch.

10 ccm Ser. peritoneal n. 40 Std. subd. Vir. filtr. 1:50 am 18. VIII. M. 51, 24. VIII. abends Paral. d. l. Armes, 25. Paral. †.
Virizidie des Serums in vitro 0,05.

Der Ausfall dieses Versuches war eigentlich von uns vorausgesehen. Bei den vielen Versuchen, welche wir über die Wirkung des Lyssaserums angestellt hatten²⁾, konnten wir weder einen präventiven, noch einen kurativen Effekt sehen, trotzdem das Serum in vitro noch in starken Verdünnungen sich als rabizid erwiesen hatte. Wir stellten den Satz auf, daß ein solches Serum nur in vitro Virus abzutöten vermag, bei getrennter Infektion aber wirkungslos sei.

Bei der großen Verwandtschaft der biologischen Eigenschaften des Virus der Poliomyelitis und des Lyssavirus war von vornherein an derartige Verhältnisse zu denken. Und tatsächlich bestätigen, wie wir sehen, die Versuche unsere Voraussetzung. Trotzdem das Serum Poliomyelitisvirus in vitro abtötet, ist es bei präventiver peritonealer Injektion wirkungslos. Daß ein derartiges Serum kurative Eigenschaften haben sollte, ist von vornherein auszuschließen. Ob das Serum immunisierter Affen einen präventiven und kurativen Schutz hat, wie Flexner angibt, haben wir nicht geprüft. Für praktische Zwecke käme das Affenserum wohl kaum in Frage.

Da uns, wie gesagt, nur die praktische Seite der Poliomyelitisfrage interessiert hat, haben wir die Versuche an

1) Das Schaf wurde vom 10. II. bis 26. VII. mit karbolisiertem Gehirn von Makaken, die an Poliomyelitis zugrunde gingen, subkutan behandelt, erhielt 915 ccm konzentrierte Emulsion. Aderlaß am 13. VIII.

2) Handb. der Technik u. Methodik der Immunitätsf., Bd. 2.

größeren Tieren angestellt, die zur Serumbereitung verwendet werden könnten.

Nach dem Ausfall dieser Serumversuche bleibt doch als präventive Schutzimpfungsmethode nur die aktive Schutzimpfung übrig, die experimentell günstige Resultate liefert. Da die einmalige präventive Impfung mit 1—1½ Proz. karbolisiertem Virus nicht nur vollkommen unschädlich ist, sondern auch schützt, könnte dieses Verfahren bei Menschen zu Zwecken der Schutzimpfung versucht werden.

Zusammenfassung.

Das mit 1—1½ Proz. Karbolsäure versetzte virulente Virus der Poliomyelitis acuta (Rückenmark, Gehirn von *Macacus rhesus*, emulgiert in Kochsalzlösung) ist nach 5-tägiger Einwirkung bei subkutaner Injektion nicht mehr infektiös (für Makaken).

10 ccm eines derartig abgetöteten Virus, subkutan injiziert, schützen Makaken gegen eine nachträgliche subdurale Infektion. Mittels Serum (eines mit Virus vorbehandeltes Schafes) kann man Virus in vitro abtöten. Dieses virizide Serum vermag aber nicht einmal präventiv Schutz zu verleihen. Auch in dieser Hinsicht sind Analogieen mit dem Lyssavirus feststellbar. Die Serumtherapie der Poliomyelitis dürfte wenig aussichtsvoll sein, viel mehr verspricht nach den vorangehenden Versuchen die prophylaktische Schutzimpfung mit karbolisiertem Virus einen Erfolg.

Weitere Versuche sollten auch der Frage näher treten, ob mittels aktiver Schutzimpfungen (Vaccinationsverfahren) nicht etwa bereits die ausgebrochene Poliomyelitis günstig zu beeinflussen wäre. Die Tatsache, daß die Poliomyelitis auch spontan ausheilt, spricht jedenfalls dafür, daß schon natürliche Heilfaktoren zur Heilung führen können. Es hat sich ergeben, daß die kurative subkutane Immunisierung mit karbolisiertem Virus nicht imstande war, die Tiere vor Ausbruch der Krankheit zu schützen. Die Tiere, die kein karbolisiertes Virus erhielten und gleichzeitig infiziert wurden, erkrankten ebenso rasch wie Kontrolltiere und gingen zugrunde.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien
(Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Ueber die Bildung von komplementbindenden Substanzen für Tuberkulin bei tuberkulösen und gesunden Tieren.

Von Dr. **M. Laub.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. November 1910.)

Seit der Entdeckung der Komplementbindung durch Bordet und Gengou hat diese in hohem Maße das Interesse erregt, namentlich seit der Vereinfachung der Methode durch Wassermann und Bruck, die in ihrer Versuchsanordnung bekanntlich statt Suspensionen morphologisch erhaltener Bakterien Extrakte aus den Bakterien, also gelöste Bakterien-substanzen als Antigen in Anwendung gebracht haben. Insbesondere war es das schwierige Tuberkuloseimmunitätsproblem, das man mit Hilfe der Komplementbindungsmethode einer Lösung zuführen zu können hoffte. Wassermann und Bruck sehen speziell in der lokalen Tuberkulinreaktion eine elektive Eigenschaft des Tuberkulins, das, in die Blutbahn gebracht, von einem im tuberkulösen Herd befindlichen Stoff aus dem Blut herausgezogen und in dem Herd konzentriert wird. Im Sinne Ehrlichs müßte ein spezifischer Antikörper vorhanden sein, dessen Gegenwart die Ursache darstelle, die das Tuberkulin in den Herd hineinziehe. „Denn da, wo Antikörper ist, vermag das Antigen vermöge der den beiden innewohnenden gegenseitigen Avidität auch aus der stärksten Verdünnung hineingezogen zu werden.“

In der Tat gelang es den Autoren mittels des Komplementbindungsverfahrens solche Reaktionskörper sowohl in den Organen von Tuberkulösen als auch im Blutserum von mit Tuberkulin Behandelten nachzuweisen. Auf die Einwände, die gegen ihre Methode und gegen ihre Schlußfolgerungen von Weil und Nakayama und insbesondere von Morgenroth und Rabinowitsch erhoben wurden, soll hier nicht näher eingegangen werden. Es sei nur bemerkt, daß auch nach

Berücksichtigung der gegen die ursprüngliche Methode erhobenen Einwände (Hemmung durch Summierung von an sich unterhemmenden Dosen) sowohl von Wassermann und Bruck, als auch von anderen Autoren (Lüdke, Wolff und Mühsam, S. Cohn, Rolly, Laub und Novotný u. a.) zuweilen „Antituberkulin“ im Serum von Tuberkulösen nachgewiesen werden konnte.

Wie sich in dieser Beziehung das Serum von Nichttuberkulösen verhält, ob eine Antikörperproduktion nach Injektion von Tuberkulin auch bei Gesunden statthat, haben Wassermann und Bruck nur angedeutet, jedoch nicht zur Entscheidung gebracht. Bei einem Gesunden fand sich nach drei diagnostischen Tuberkulininjektionen von 1,5 und 10 mg, die ohne Reaktion verliefen, kein Antituberkulin im Serum vor.

Christian und Rosenblatt hatten in ihren Untersuchungen über Tuberkulose-Antikörper und -Immunität die Bildung der komplementbindenden Substanzen bei gesunden und kranken Tieren sowie ihre Beziehungen zur Tuberkuloseimmunität zum Gegenstand ihres Studiums gemacht und hatten dabei ein verschiedenes Verhalten der Tiersera konstatieren können. Während bei Meerschweinchenseris — übereinstimmend mit den Untersuchungen von Bordet und Gengou — keine Komplementbindung gefunden wurde, gleichgültig, in welchen Stadien sich die tuberkulöse Erkrankung befand, zeigte Kaninchenserum häufig schon vor der Infektion mit Tuberkulose in der Verdünnung von 1:10 eine deutliche Komplementbindung, so daß sie hieraus auf einen schon normalerweise in größerer Menge vorhandenen Antikörper schließen, womit nach der Meinung der Autoren vielleicht die größeren Resistenz der Kaninchen gegenüber einer Tuberkuloseinfektion zusammenhänge.

Sera von gesunden Meerschweinchen, die mit zerriebenen Tuberkelbacillen, sogenanntem Neuen Tuberkulin (Bacillenemulsion) vorbehandelt wurden, zeigten keine Komplementbindungsreaktion. Hingegen wurden von denjenigen Meerschweinchen komplementbindende Substanzen gebildet, die an Tuberkulose erkrankt waren und Tuberkelbacillenpräparate injiziert erhalten hatten, so daß die Autoren den Schluß ziehen, daß die komplementbindenden Antikörper nur im tuberkulösen

Körper nach aktiver Immunisierung mit Tuberkelbacillenpräparaten entstehen. Sie glauben aus weiteren Versuchen, diese Stoffe zu Heilungsvorgängen in Beziehung bringen zu dürfen.

Die Angaben von Christian und Rosenblatt wurden von Schenk nur teilweise bestätigt. Schenk fand zwar bei den tuberkulösen und gleichzeitig behandelten Meerschweinchen konstant eine starke Komplementbindungsreaktion mit dem zur Behandlung verwendeten Antigen, diese trat jedoch auch auf bei den mit Bacillenemulsion allein behandelten und bei den tuberkulösen Tieren, war aber ungleich schwächer als bei der ersten Gruppe. Die abweichenden Befunde finden nach Verfasser darin ihre Erklärung, daß Christian und Rosenblatt eine zu geringe Menge von Antigen benutzt haben: denn der Tuberkelbacillus ist im Gegensatze zu anderen Bakterien ein Mikroorganismus, welcher zur Erzeugung von Antikörpern nur wenig geeignet ist. Man müßte daher große Mengen und oftmals injizieren, um Antikörper zu erhalten. Diesen Standpunkt nimmt auch Herbert Koch ein, der bei tuberkulosefreien Meerschweinchen, die mit A.-T. oder T.-R. vorbehandelt wurden, komplementbindende Antikörper fand. Ein Teil dieser Antikörper wird schon durch die Bouillon allein hervorgerufen. Während jedoch der tuberkulöse Organismus schon auf kleine Dosen mit komplementbindenden Antikörpern antwortet, treten diese bei Behandlung gesunder Meerschweinchen erst dann auf, wenn relativ große Dosen injiziert werden. In jüngster Zeit haben Ruppel und Rickmann bei ihren Versuchen, ein wirksames Tuberkuloseserum darzustellen, betont, daß sie „Antituberkulin“ nur bei Immunisierung von Tieren, die durch Einverleibung lebender Kulturen zunächst tuberkulinempfindlich gemacht wurden, schon nach Injektion von geringen Antigenmengen nachweisen konnten.

Angesichts dieser widersprechenden Angaben haben wir verschiedene Tiere, gesunde und mit Tuberkulose infizierte Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen und ein Pferd mit Emulsionen von zerriebenen und durch Karbolsäure abgetöteten Tuberkelbacillen, zum Teil vom Typus humanus, zum Teil vom Typus bovinus vorbehandelt und die Sera auf komplementbindende Substanzen untersucht. Wir wollten die Frage zur Entscheidung bringen, ob speziell gesunde

Tiere imstande sind, auch, wie Schenk glaubt, bei gesteigerter Zufuhr von Antigen Antikörper zu produzieren oder ob tatsächlich ihre Bildung, bezw. die Bildung von komplementbindenden Substanzen mit der Erkrankung der Tiere in innigem Zusammenhange steht. Diese Frage hat nicht bloß theoretisches Interesse, sie ist auch von besonderer praktischer Bedeutung. Zeigen die Sera trotz Vorbehandlung der Tiere mit Tuberkulin, bezw. mit abgetöteten Kulturen kein Komplementbindungsphänomen, so kann ein Fehlen eines spezifischen Ambozeptors im Sinne Ehrlichs angenommen, daher das Vorhandensein eines tuberkulösen Herdes ausgeschlossen werden. Aber auch nach einer anderen Richtung ist die Lösung dieser Frage von Bedeutung. Wassermann und Bruck sowie Ruppel und Rickmann wiesen auf den Wert der Komplementbindungsreaktion in der veterinären Praxis hin. Bekanntlich besteht zum Schutze der einheimischen Viehzucht für viele Länder das Verbot der Einfuhr solcher Tiere, die auf eine Tuberkulininjektion reagieren. Zur Unterdrückung der Reaktion werden solche tuberkulöse Tiere häufig durch Tuberkulininjektionen gegen Tuberkulin unempfindlich gemacht. Es ist begreiflich, daß für diese Fälle die Komplementbindungsreaktion eine nationalökonomische Bedeutung gewinnen kann.

Komplementbindungsversuch bei Meer-schweinchen.

Es wurden die Sera gesunder und tuberkulöser Meer-schweinchen nach Vorbehandlung mit Tuberkelbacillenpräparaten auf komplementbindende Substanzen untersucht. Die Sera wurden stets $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert. In der Methodik hielten wir uns genau an das von Wassermann und Bruck angegebene Verfahren, wobei wir selbstverständlich auch die von Weil und Nakayama und Morgenroth und Rabinowitsch erhobenen Einwände hielten (cf. Laub und Novotný, „Ueber komplementbindende Substanzen bei Tuberkulose“, Wien. klin. Wochenschr. 1909).

Versuch vom 30. VI. 1910.

Hämolytisches System: 0,04 Komplement + 0,0025 Hammelblutambozeptor + 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung.

Auswertung des Antigens (Alttuberkulin): 0,06 löst komplett. Ange wandte Dose 0,03.

Zur Verwendung gelangen Sera von mit Alttuberkulin vorbehandelten tuberkulösen und in gleicher Weise vorbehandelten gesunden Meer schweinchen.

Da sich die Sera dieser beiden Gruppen gleichmäßig verhielten, soll aus dem Protokolle nur je ein Versuch mitgeteilt werden.

Tabelle I.

Meer- schweinchen	Serum- menge	Alttuber- kulin	Komple- ment	Ambo- zeptor	5-proz. Hammel- blut- aufschw.	Hämolyse
tuberkulös	0,2	0,03	0,05	0,0025	1,0	0
	0,1	0,03				0
	0,05	0,03				Spur
	0,02	0,03				Spur
	0,01	0,03				partiell
	0,4	—				0
	0,2	—				partiell
	0,1	—				f. kompl.
	0,05	—				komplett
	—	0,06				"
	—	0,03				"
	0,2	0,03				f. kompl.
	0,1	0,03				komplett
	0,05	0,03				"
gesund	0,02	0,03				"
	0,01	0,03				"
	0,4	—				"
	0,2	—				"
						"
						"

Aus diesem Versuche ergibt sich ein Unterschied in der Bindung bei den vorbehandelten tuberkulösen und den vorbehandelten gesunden Meerschweinchen; während bei den ersteren eine intensive Komplementablenkung auch bei kleinen Serumdosen (0,02 zeigt nur Spuren von Hämolyse, 0,01 noch partielle Hämolyse) stattfindet, löst das Serum vom gesunden in der Dose 0,2 fast komplett.

Aus diesem Versuche geht in Uebereinstimmung mit den Befunden von Christian und Rosenblatt und im Gegen- satze zur Angabe von Schenk hervor, daß nur tuber- kulöse Meerschweinchen nach Einverleibung von Tuberkulin komplementbindende Substanzen pro- duzieren können, nicht aber gesunde, die die gleichen Mengen Antigen erhalten hatten.

Komplementablenkungsversuch

mit den Seren von gesunden Meerschweinchen, die mit Perlsuchtemulsion (1-proz. Karbol) vorbehandelt wurden.

Als Antigen wurde Alttuberkulin verwendet.

Tabelle II.

Serum- menge	Alt- tuberkulin	Komple- ment	Ambo- zeptor	5-proz. Hammel- blut- aufschw.	Hämolyse
0,2	0,05	0,04	0,0025	1,0	komplett
0,1	0,05	0,04	0,0025	1,0	„
0,05	0,05	0,04	0,0025	1,0	„
0,4	—	0,04	0,0025	1,0	„
—	0,1	0,04	0,0025	1,0	„

Dieser Versuch bringt eine Bestätigung des vorigen: auch bei Vorbehandlung gesunder Meerschweinchen mit Tuberkelbacillen vom Typus bovinus werden, wie aus Tabelle II hervorgeht, keine komplementbindenden Substanzen gebildet.

Komplementbindungsversuche bei Kaninchen.

Kaninchen 384 (gesund) wurde mit Emulsion¹⁾ von Tuberkelbacillen vom Typus bovinus in der Weise vorbehandelt, daß es in 8-tägigen Intervallen 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,5, 0,6 ccm subkutan erhielt. Aderlaß 16 Tage nach der letzten Injektion.

Kaninchen 66 (gesund) in analoger Weise mit Alttuberkulin vorbehandelt (0,5, 1, 2, 3, 3, 3, 4, 5 ccm).

Die inaktivierten Sera lösen alle in der Dose von 0,2, 0,05 und 0,01 komplett, ebenso Sera von normalen Kaninchen. Als Antigen wurde Alttuberkulin verwendet.

Komplementbindungsversuche bei Ziegen.

Es wurden Ziegen mit verschiedenen Bacillenpräparaten in ähnlicher Weise wie die Kaninchen vorbehandelt.

Ziege 31 vorbehandelt mit Alttuberkulin (innerhalb 4 Monaten 79 ccm).

Ziege 25 vorbehandelt mit Bacillenemulsion (Rückstand einer Glycerinbouillonkultur) von Geflügeltuberkulose (1 Proz. Karbol).

Ziege 29 vorbehandelt mit Bacillenemulsion (Rückstand einer Glycerinbouillonkultur) vom St. Bartel (Typ. human. 1 Proz. Karbol).

Ziege 12 vorbehandelt mit Bacillenemulsion vom Typ. bovin. (1 Proz. Karbol).

1) Die Emulsionen wurden in der Weise bereitet, daß eine Oese Kultur in 5 ccm Kochsalzlösung verrieben wurde. Abtötung der Bacillen durch Zusatz von 1 Proz. Karbolsäure.

Es wurden in verschiedenen Phasen der Immunisierung Aderlässe gemacht (16. III., 14. IV., 19. VII.) und die Sera auf ihren Gehalt von komplementbindenden Substanzen geprüft. Zur Kontrolle wurden stets normale Ziegenserä mituntersucht. Da die zu verschiedenen Zeiten gewonnenen Sera gleichmäßige Resultate gaben, so sei hier aus den Protokollen nur ein Versuch vom 14. April mitgeteilt.

Inaktivierung der Sera durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°.

Auswertung des hämolytischen Systemes: 0,04 Komplement + 0,002 Ambozeptor + 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung.

Auswertung des Tuberkulins: 0,08 löst komplett.

Tabelle III.

Ziege	Serum- menge	Tuber- kulin	Kom- plement	Ambo- zeptor	5-proz. Hammel- blut- aufschw.	Hämo- lyse	Anmerkung
Normale	0,2	0,04	0,04	0,002	1,0	kompl.	Die zur Kon- trolle ohne Antigen auf- gestellten doppelt. Se- rummengen (0,4) lösten komplett
	0,1	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
	0,05	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
31	0,2	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
	0,1	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
	0,05	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
29	0,2	0,04	0,04	0,002	1,0	f.kompl.	
	0,1	0,04	0,04	0,002	1,0	kompl.	
	0,05	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
25	0,2	0,04	0,04	0,002	1,0	f.kompl.	
	0,1	0,04	0,04	0,002	1,0	kompl.	
	0,05	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
12	0,2	0,04	0,04	0,002	1,0	f.kompl.	
	0,1	0,04	0,04	0,002	1,0	"	
	0,05	0,04	0,04	0,002	1,0	kompl.	

Aus diesen letztangeführten Versuchen geht hervor, daß gesunden Kaninchen und Ziegen, die mit verschiedenen Tuberkelbacillenpräparaten in relativ reichlicher Menge und durch längere Zeit systematisch vorbehandelt wurden, die Fähigkeit abgeht, komplementbindende Stoffe zu produzieren.

Ganz anders verhält sich jedoch das Serum eines Pferdes, welches in ähnlicher Weise wie die Ziege vorbehandelt wurde.

Das Pferd Magda wurde in 8-tägigen Intervallen mit einer Perlsucht-emulsion in immer steigenden Dosen behandelt. Die Emulsion wurde in der Weise bereitet, daß eine Oese einer Perlsuchttagarkultur in 10 ccm Kochsalz-

lösung verrieben wurde; zwecks Abtötung der Kultur wurde in den ersten Wochen der Behandlung $\frac{1}{2}$ Proz., später 1 Proz. Karbolsäure hinzugefügt.

Das Pferd reagierte auf die Injektionen oft mit Temperatursteigerungen bis 39,9.

Vom 24. XI. bis zum ersten Aderlasse, der 10 Tage nach der letzten Injektion (3. VI. 10) erfolgte, erhielt das Pferd 530 ccm der auf die oben geschilderte Art bereiteten Emulsion, bis zum zweiten Aderlasse (30. VIII.) noch weitere 210 ccm.

Tabellen IV und V geben die Komplementbindungsversuche wieder, die mit den Aderlässen vom 14. VI. bzw. 30. VIII. 10 angestellt wurden. Zur Kontrolle wurde stets normales Pferdeserum untersucht.

Inaktivierung der Sera durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°.

Auswertung des hämolytischen Systems: 0,04 Komplement + 0,0025 Ambozeptor + 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung.

Auswertung des Tuberkulins: 0,06 löst komplett.

Tabelle IV.

Pferd	Serum- menge	Alt- tuber- kulin	Komple- ment	Ambo- zeptor	5-proz. Hammel- blut- aufschw.	Hämolyse
Magda (Aderlaß v. 14. VI.)	0,2	0,03	0,04	0,0025	1,0	0
	0,1	0,03	0,04	0,0025	1,0	Spur
	0,05	0,03	0,04	0,0025	1,0	partiell
	0,02	0,03	0,04	0,0025	1,0	f. kompl.
	0,01	0,03	0,04	0,0025	1,0	komplett
	0,4	—	0,04	0,0025	1,0	"
	0,2	—	0,04	0,0025	1,0	"
Normal	0,2	0,03	0,04	0,0025	1,0	f. kompl.
	0,1	0,03	0,04	0,0025	1,0	"
	0,05	0,03	0,04	0,0025	1,0	komplett
	0,02	0,03	0,04	0,0025	1,0	"
	0,4	—	0,04	0,0025	1,0	"
	—	0,06	0,04	0,0025	1,0	"

Tabelle V.

Pferd	Serum- menge	Alt- tuber- kulin	Komple- ment	Ambo- zeptor	5-proz. Hammel- blut- aufschw.	Hämolyse
Magda (Aderlaß v. 30. VIII.)	0,2	0,03	0,04	0,0025	1,0	Spur
	0,1					partiell
	0,05					"
	0,02					f. kompl.
	0,01					komplett
	0,4	—				"
Normal	0,2	—				"
	0,1	0,03				"
	0,05					"
	0,02					"
	0,4	—				"
	—	0,06				"

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß das Pferd Magda nach längerer Behandlung mit Perlsuchtemulsion komplementbindende Substanzen gebildet hat. Es steht dieser Befund im Gegensatz zu den mitgeteilten Versuchen an Meerschweinchen, Kaninchen und Ziegen, die in gleichartiger Weise vorbehandelt wurden und in deren Seren keine komplementbindende Substanzen konstatiert werden konnten.

Zur Deutung dieses widerstreitenden Befundes käme in erster Linie die Annahme Schenks in Betracht, daß der Tuberkelbacillus zur Erzeugung von Antikörpern nur wenig geeignet sei, daß man solche nur erhalten könne, wenn große Mengen des Antigens und oftmals injiziert würden. Diese Voraussetzung trifft allerdings bei unserem Pferde zu, da es ja durch längere Zeit injiziert wurde und relativ größere Dosen des Antigens erhalten hatte. Im Verhältnisse zum Pferde haben aber auch die Ziegen nicht zu kleine Dosen des Antigens erhalten (zwischen 60 und 85 ccm), und trotzdem zeigen ihre Sera keine Komplementbindungsreaktion. Aus diesem Grunde könnte von der Annahme, daß die Produktion von komplementbindenden Substanzen nur von der Menge des injizierten Antigens abhänge, abgesehen werden. Mehr Wahrscheinlichkeit besitzt jedoch die Erwägung, daß die Aufschwemmungen, die dem Pferde anfänglich injiziert wurden, durch den Zusatz von $\frac{1}{2}$ Proz. Karbolsäure in ihrer Virulenz wohl stark herabgesetzt, aber nicht vollständig abgetötet waren, so daß das Pferd dadurch tuberkulinempfindlich wurde¹⁾. Unter dieser Voraussetzung würde der positive Ausfall der Komplementbindungsreaktion natürlich erscheinen und sich in den Rahmen der anderen Versuche einfügen lassen. Es würde diese Annahme auch im Einklange mit den jüngst von Ruppel und Rickmann erhobenen Befunden stehen, die nur dann komplementbindende Substanzen bei ihren Versuchspferden konstatieren konnten, wenn diese vor der weiteren Behandlung durch Injektion abgeschwächter Kulturen überempfindlich gemacht wurden. Es soll allerdings nicht verschwiegen werden, daß beim Pferde zweimal (am 29. VII. und 8. VIII.) die

1) In der Folge wurde, wie schon früher erwähnt, den Emulsionen 1 Proz. Karbolsäure hinzugefügt.

Ophthalmoreaktion geprüft wurde und ein negatives Resultat ergeben hatte, was allerdings nach den bisherigen Erfahrungen nicht gegen die Allergie des Organismus spricht.

Zusammenfassung.

1) Nur tuberkulöse Meerschweinchen produzieren nach Einverleibung von Tuberkulin komplementbindende Substanzen, nicht aber gesunde, die die gleichen Mengen Antigen erhalten hatten.

2) Auch die Sera gesunder Kaninchen und Ziegen, die mit verschiedenen Tuberkelbacillenpräparaten durch längere Zeit systematisch vorbehandelt wurden, zeigen mit Tuberkulin als Antigen keine Komplementbindung.

3) Hingegen zeigt das Serum eines gesunden Pferdes das durch längere Zeit mit einer Emulsion von Tuberkelbacillen vom Typus bovinus vorbehandelt wurde, Komplementbindungsreaktion.

Literatur.

- Wassermann und Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 12;
Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 49.
Wassermann, Berl. klin. Wochenschr. 1907, No. 1.
Weil und Nakayama, Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 21.
Morgenroth und Rabinowitsch, Deutsche med. Wochenschr., 1907,
No. 18.
Laub und Novotný, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 31.
Christian und Rosenblatt, Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 39.
Schenk, Folia serologica, Mai 1909, II. phys. Teil.
Koch, Herbert, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 45.
Ruppel und Rickmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910.

Nachdruck verboten.

[Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien:
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Besteht ein Zusammenhang zwischen Agglutinabilität und Bindungsvermögen verschiedener Typhus- und Cholera-stämme?

Von Dr. **M. von Eisler** und Dr. **So** (Tokio).

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. November 1910.)

Durch die Untersuchungen von Porges, sowie von Porges und Prantschoff wurden wertvolle Aufschlüsse über das feinere Verhalten bei der Ausflockung der Bakterien erhalten, und dargetan, daß der Zustand des Bakterienproteins für die größere oder geringere Stabilität, mithin also für den Grad der Fällbarkeit der Bakteriensuspension von ausschlaggebender Bedeutung sei. P. Th. Müller konnte zeigen, daß Typhusbakterien durch Züchtung auf Immunserum enthaltender Bouillon schwächer agglutinabel werden und auch weniger Agglutinin binden als die auf gewöhnlichem Nährboden gewachsenen Bakterien. Es lag nahe, zu untersuchen, worauf die oft recht beträchtlichen Differenzen in der Agglutinabilität der einzelnen Stämme derselben Art zurückzuführen seien. Zunächst konnte man daran denken, daß die schlechter agglutinablen Stämme auch weniger Agglutinin zu binden vermögen.

Wir haben daher eine Reihe von Typhusstämmen, deren Agglutinabilität aus der folgenden Tabelle (I) zu ersehen ist, auf ihr Bindungsvermögen gegenüber den Serumagglutininen untersucht.

Tabelle 1.

Stamm	Menge des Serums	Agglutination
Galle	0,1 ccm	komplett
	0,05 „	partiell
	0,02 „	ø
	0,01 „	ø
VI	0,1 „	komplett
	0,05 „	„
	0,02 „	partiell
	0,01 „	ø

Stamm	Menge des Serums	Agglutination
Conradi	0,004 „	komplett
	0,003 „	„
	0,002 „	„
	0,001 „	partiell
Straßburg	0,2 „	komplett
	0,1 „	„
	0,05 „	partiell
	0,02 „	θ
54	0,004 „	komplett
	0,003 „	„
	0,002 „	„
	0,001 „	fast komplett
28	0,04 „	komplett
	0,02 „	„
	0,01 „	partiell
	0,005 „	Spur
IV	0,05 „	komplett
	0,02 „	„
	0,01 „	partiell
	0,005 „	θ
Drigalski	0,1 „	komplett
	0,05 „	„
	0,02 „	fast komplett
	0,01 „	partiell
XIII	0,004 „	komplett
	0,003 „	„
	0,002 „	„
	0,001 „	fast komplett

Diese Prüfung wurde in der Weise vorgenommen, daß abgemessene Mengen des Typhusimmunserums mit je 1 ccm der betreffenden Typhusaufschwemmung versetzt und 1 Stunde lang bei 36° gehalten wurden. Dann wurden die Bakterien gut abzentrifugiert, und die vollkommen klaren Flüssigkeiten auf ihren Agglutiningehalt gegenüber einem bestimmten Stamm ausgewertet. Bemerkt sei noch, daß die Aufschwemmungen der verschiedenen Typhusstämmen möglichst gleich dicht hergestellt wurden und 0,5 Proz. Karbolsäure enthielten.

In dem folgenden Versuch wurde der Agglutiningehalt der überstehenden Flüssigkeiten mit Stamm XIII geprüft. Im Versuche a haben wir den Bakterienaufschwemmungen 2 ccm des 10-fach verdünnten Serums = 100 Agglutinationseinheiten für Stamm XIII, in Versuch b 1 ccm des unverdünnten Serums = 500 AE. für Stamm XIII zugesetzt.

Tabelle II.

a			b		
Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination
28	0,03 cem	partiell	28	0,003 cem	partiell
	0,04 "	"		0,005 "	fast komplett
	0,06 "	"		0,007 "	komplett
	0,08 "	fast komplett		0,003 "	partiell
IV	0,03 "	partiell	IV	0,005 "	fast komplett
	0,04 "	"		0,007 "	komplett
	0,06 "	fast komplett		0,003 "	partiell
	0,08 "	dgl.		0,005 "	fast komplett
Drigalski	0,03 "	partiell	Drigalski	0,007 "	komplett
	0,04 "	"		0,003 "	partiell
	0,06 "	fast komplett		0,005 "	fast komplett
	0,08 "	dgl.		0,007 "	komplett
XIII	0,03 "	partiell	XIII	0,003 "	partiell
	0,04 "	"		0,005 "	fast komplett
	0,06 "	fast komplett		0,007 "	komplett
	0,08 "	dgl.		0,003 "	partiell
54	0,03 "	Spur	54	0,005 "	fast komplett
	0,04 "	partiell		0,007 "	komplett
	0,06 "	"		0,003 "	partiell
	0,08 "	fast komplett		0,005 "	fast komplett
Straßburg	0,03 "	Spur	Straßburg	0,007 "	komplett
	0,04 "	partiell		0,003 "	partiell
	0,06 "	"		0,005 "	fast komplett
	0,08 "	fast komplett		0,007 "	komplett
Conradi	0,03 "	Spur	Conradi	0,003 "	partiell
	0,04 "	partiell		0,005 "	fast komplett
	0,06 "	"		0,007 "	komplett
	0,08 "	fast komplett		0,003 "	partiell
VI	0,03 "	Spur	VI	0,005 "	fast komplett
	0,04 "	partiell		0,007 "	komplett
	0,06 "	"		0,003 "	partiell
	0,08 "	fast komplett		0,005 "	fast komplett
Galle	0,03 "	Spur	Galle	0,007 "	komplett
	0,04 "	partiell		0,003 "	partiell
	0,06 "	"		0,005 "	fast komplett
	0,08 "	fast komplett		0,007 "	komplett

Die einzelnen Typhusstämmen haben also, wie aus diesen Versuchen hervorgeht, gleichviel Agglutinin für Stamm XIII aus dem Serum gebunden, sogar ebensoviel als Stamm XIII selbst, trotzdem bezüglich ihrer Agglutinabilität recht beträchtliche Differenzen bestehen. So z. B. wird Stamm XIII von einer fast 1000-mal geringeren Serummengende ausgeflockt als Stamm Galle oder Straßburg. Nachstehend ist eine Versuchsreihe wiedergegeben, in der die Auswertung des Agglutinin-

gehalts nach der Absorption statt mit Stamm XIII mit den Stämmen 28 und Conradi vorgenommen wurde. Im übrigen war die Versuchsanordnung genau die gleiche wie oben. Es wurden je 2 ccm des Serums entsprechend 100 AE. für Stamm 28 und 1000 AE. für Stamm Conradi mit je 1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt.

Das Nähere ist aus der Tabelle III zu ersehen.

Tabelle III.

Stamm 28			Stamm Conradi		
Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination
Galle	0,04 ccm	fast komplett	Galle	0,004 ccm	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
Conradi	0,04 "	fast komplett	Conradi	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	komplett?		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
IV	0,04 "	fast komplett	IV	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
Straßburg	0,04 "	fast komplett	Straßburg	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
VI	0,04 "	fast komplett	VI	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	komplett?		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
54	0,04 "	fast komplett	54	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	komplett		0,006 "	komplett
	0,08 "	"		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
28	0,04 "	fast komplett	28	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
Drigalski	0,04 "	fast komplett	Drigalski	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"
XIII	0,04 "	fast komplett	XIII	0,004 "	fast komplett
	0,06 "	dgl.		0,006 "	komplett
	0,08 "	komplett		0,01 "	"
	0,1 "	"		0,02 "	"

Auch das Agglutinin für Stamm 28 und Conradi wird also von den verschiedenen Typhusstämmen in gleich starkem Maße gebunden.

Das in den bisherigen Versuchen verwendete Typhusagglutinin wurde von einem Pferde durch Immunisierung mit Stamm XIII gewonnen. Wir haben nun mehrere Kaninchen mit dem schwer agglutinablen Stamm Straßburg durch intravenöse Injektionen immunisiert, um zu sehen, ob nicht ein derartig hergestelltes Agglutinin die durch Pferdeimmunserum wenig beeinflussbaren Stämme, besonders Stamm Straßburg, in stärkerem Grade auszuflocken imstande wäre. Wir lassen nun zunächst eine Tabelle folgen, in der die Agglutination der verschiedenen Typhusstämmen durch zwei der mit Stamm Straßburg gewonnenen Kaninchenserum wiedergegeben wird.

Tabelle IV.

Serum No. 355			Serum No. 289		
Bakterienstamm	Menge des Serums	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Serums	Agglutination
Conradi	0,006 cem	komplett	Conradi	0,006 cem	komplett
	0,004 "	"		0,004 "	fast komplett
	0,002 "	partiell		0,002 "	partiell
	0,001 "	Spur		0,001 "	ø
XIII	0,006 "	komplett	XIII	0,006 "	komplett
	0,004 "	"		0,004 "	"
	0,002 "	partiell		0,002 "	fast komplett
	0,001 "	Spur		0,001 "	partiell
54	0,006 "	komplett	54	0,006 "	komplett
	0,004 "	"		0,004 "	"
	0,002 "	partiell		0,002 "	partiell
	0,001 "	ø		0,001 "	Spur
Galle	0,1 "	komplett	Galle	0,1 "	komplett
	0,05 "	"		0,05 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	partiell
	0,01 "	partiell		0,01 "	Spur
VI	0,02 "	komplett	VI	0,1 "	komplett
	0,01 "	fast komplett		0,05 "	"
	0,005 "	partiell		0,02 "	fast komplett
	0,002 "	Spur		0,01 "	partiell
Drigalski	0,1 "	komplett	Drigalski	0,1 "	komplett
	0,05 "	"		0,05 "	"
	0,02 "	fast komplett		0,02 "	fast komplett
	0,01 "	partiell		0,01 "	partiell
Straßburg	0,05 "	komplett	Straßburg	0,05 "	komplett
	0,02 "	"		0,02 "	komplett?
	0,01 "	fast komplett		0,01 "	Spur
	0,005 "	partiell		0,005 "	ø

Serum No. 355			Serum No. 289		
Bakterienstamm	Menge des Serums	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Serums	Agglutination
28	0,04 ccm	komplett	28	0,04 ccm	komplett
	0,02 "	"		0,02 "	"
	0,01 "	"		0,01 "	fast komplett
	0,005 "	fast komplett		0,005 "	partiell
IV	0,01 "	komplett	VI	0,04 "	komplett
	0,005 "	"		0,02 "	"
	0,002 "	partiell		0,01 "	fast komplett
	0,001 "	Spur		0,005 "	partiell

Die Agglutinationsverhältnisse bei den beiden Kaninchen-seris sind nun allerdings etwas andere als bei dem Pferdeimmunserum, insbesondere wird der Stamm Straßburg von diesen Seris stärker beeinflusst, trotzdem aber zeigt sich, daß Stamm Straßburg auch von diesen Seris schwächer ausgeflockt wird als die Stämme XIII, Conradi, 54, die vom Pferdetyphus-serum am stärksten agglutiniert werden und die wir als gut agglutinable Stämme bezeichnen müssen.

Wir wollen nun Bindungsversuche mit diesen beiden Seris, die in der gleichen Weise wie beim Pferdeimmunserum vorgenommen wurden, anführen. Die Auswertung des mit den verschiedenen Stämmen versetzten Serums erfolgte sowohl gegen Stamm XIII als auch gegen Stamm Conradi. Es wurde jedesmal 1 ccm Serum mit je 1 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt. 1 ccm Serum No. 355 entspricht für Stamm XIII und Conradi 250 AE., 1 ccm Serum No. 289 für Stamm XIII 250 AE., für Stamm Conradi 166 AE.

Tabelle V.

Stamm XIII			Stamm Conradi		
Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination
a) Serum No. 355.					
Galle	0,01 ccm	partiell	Galle	0,008 ccm	Spur
	0,015 "	komplett?		0,01 "	partiell
	0,02 "	komplett		0,015 "	"
	0,03 "	"		0,02 "	fast komplett
IV	0,01 "	partiell	IV	0,008 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,01 "	"
	0,02 "	"		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett

Stamm XIII			Stamm Conradi		
Bakterien- stamm	Menge des Zentri- fugats	Agglu- tination	Bakterien- stamm	Menge des Zentri- fugats	Agglu- tination
Drigalski	0,01 ccm	fast komplett	Drigalski	0,008 ccm	Spur
	0,015 "	komplett		0,01 "	partiell
	0,02 "	"		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
Conradi	0,01 "	fast komplett	Conradi	0,008 "	Spur
	0,015 "	komplett?		0,01 "	partiell
	0,02 "	komplett		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
Straßburg	0,01 "	partiell	Straßburg	0,008 "	partiell
	0,015 "	komplett?		0,01 "	"
	0,02 "	komplett		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
VI	0,01 "	fast komplett	VI	0,008 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,01 "	"
	0,02 "	"		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
54	0,01 "	fast komplett	54	0,008 "	Spur
	0,015 "	komplett?		0,01 "	partiell
	0,02 "	komplett		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
XIII	0,01 "	fast komplett	XIII	0,008 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,01 "	"
	0,02 "	"		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
28	0,01 "	fast komplett	28	0,008 "	partiell
	0,015 "	komplett?		0,01 "	"
	0,02 "	komplett		0,015 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,02 "	komplett
b) Serum 289.					
Galle	0,01 ccm	fast komplett	Galle	0,01 ccm	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
IV	0,01 "	fast komplett	IV	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
Drigalski	0,01 "	fast komplett	Drigalski	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
Conradi	0,01 "	fast komplett	Conradi	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
Straßburg	0,01 "	fast komplett	Straßburg	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	dgl.

Stamm XIII			Stamm Conradi		
Bakterien-stamm	Menge des Zentri-fugats	Agglu-tination	Bakterien-stamm	Menge des Zentri-fugats	Agglu-tination
VI	0,01 ccm	fast komplett	VI	0,01 ccm	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
54	0,01 "	fast komplett	54	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett
XIII	0,01 "	fast komplett	XIII	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	fast komplett
	0,02 "	"		0,02 "	komplett
	0,03 "	"		0,03 "	"
28	0,01 "	fast komplett	28	0,01 "	partiell
	0,015 "	komplett		0,015 "	"
	0,02 "	"		0,02 "	fast komplett
	0,03 "	"		0,03 "	komplett

Auch in diesen Versuchen sehen wir wieder in Uebereinstimmung mit den früheren Resultaten, daß alle Stämme gleichviel Agglutinin binden! Bei Serum No. 289 sind die Agglutinationswerte der von den Bakterien befreiten Flüssigkeit für Stamm Conradi etwas andere als für Serum XIII, weil eben in 1 ccm Serum 289 weniger Agglutinationseinheiten für den ersteren Stamm enthalten sind, die von den verschiedenen Stämmen gebundenen Agglutininmengen sind aber auch in diesem Falle die gleichen.

In Berücksichtigung der den verschiedenen Bakterienarten zukommenden eigentümlichen Agglutinationsverhältnisse haben wir außer den bisher angeführten Versuchen, die ausschließlich Typhusbakterien umfassen, auch eine Reihe derartiger Untersuchungen mit verschiedenen Cholerastämmen durchgeführt. Als Agglutinin wurde bei diesen Versuchen ein Pferdeimmenserum benutzt, dessen Agglutinationswert für verschiedene Cholerastämme aus Tabelle VI zu entnehmen ist.

Tabelle VI.

Stamm	Menge des Serums	Agglutination
Held	0,02 ccm	komplett
	0,01 "	"
	0,005 "	"
	0,002 "	partiell

Stamm	Menge des Serums	Agglutination
Hoffmann	0,02 ccm	komplett
	0,01 "	"
	0,005 "	"
	0,002 "	partiell
Saigon K	0,04 "	komplett
	0,02 "	"
	0,01 "	"
	0,005 "	partiell
Truka	0,02 "	komplett
	0,01 "	"
	0,005 "	"
	0,002 "	partiell
Arab 3	0,04 "	komplett
	0,02 "	"
	0,01 "	"
	0,005 "	fast komplett
Karzellen ¹⁾	0,04 "	komplett
	0,02 "	"
	0,01 "	"
	0,005 "	partiell
Saigon II	0,02 "	komplett
	0,01 "	fast komplett
	0,005 "	partiell
	0,002 "	Spur
Z 10	0,02 "	komplett
	0,01 "	"
	0,005 "	"
	0,002 "	fast komplett

Die Bindungsversuche wurden wieder so ausgeführt, daß je 1 ccm des Pferdeimmunserums mit je 1 ccm der verschiedenen Bakterienaufschwemmungen versetzt und nach einstündigem Aufenthalt bei 36° bis zur vollständigen Klärung zentrifugiert wurden. Die Auswertung der durch das Zentrifugieren gewonnenen klaren Flüssigkeit auf Agglutiningehalt geschah gegen Stamm Z 10 und Stamm Hoffmann. Je 1 ccm des unverdünnten Serums enthält für diese beiden Stämme je 200 AE.

Auch dieser Versuch (Tabelle VII) zeigt wieder, daß die 8 verschiedenen Cholerastämme gleichviel Agglutinin aus dem Serum gebunden hatten. Diese Stämme wiesen bezüglich ihrer Agglutinabilität allerdings keine so großen Differenzen auf wie die Typhusstämmen, jedoch dürfte es von Interesse sein, daß

1) Stamm Karzellen sedimentiert spontan, so daß auch die Kontrollprobe mit Kochsalzlösung zum Teil geklärt ist.

auch der zum Teil spontan agglutinierende Stamm Karzellen ebensoviel Agglutinin gebunden hat wie die übrigen Stämme. Bemerkt sei noch, daß 3 dieser Stämme, nämlich Hoffmann, Held und Truka, frisch gezüchtet waren und insbesondere Stamm Held sich durch große Virulenz auszeichnete, wogegen die anderen Stämme Laboratoriumskulturen sind.

Tabelle VII.

Stamm Z 10			Stamm Hoffmann		
Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination	Bakterienstamm	Menge des Zentrifugats	Agglutination
Held	0,01 ccm	partiell	Held	0,01 ccm	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„
Hoffmann	0,01 „	fast komplett	Hoffmann	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett ?
	0,03 „	„		0,03 „	komplett
Saigon K	0,01 „	partiell	Saigon K	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„
Truka	0,01 „	partiell	Truka	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„
Arab 3	0,01 „	partiell	Arab 3	0,01 „	fast komplett
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„
Karzellen	0,01 „	partiell	Karzellen	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„
Saigon II	0,01 „	fast komplett	Saigon II	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,02 „	„
Z 10	0,01 „	partiell	Z 10	0,01 „	partiell
	0,02 „	komplett		0,02 „	komplett
	0,03 „	„		0,03 „	„

Die bisher angeführten Versuche haben übereinstimmend das Resultat ergeben, daß verschiedene Bakterienaufschwemmungen, die zum Teil beträchtliche Differenzen ihrer Agglutinabilität wie die Typhusbakterien aufweisen, andererseits frischen, mehr virulenten und schon lange fortgezüchteten Kulturen entstammen, gleichviel Agglutinin binden. In der Literatur finden sich über diese Eigenschaft der Bakterien nur vereinzelte, zum Teil widersprechende Angaben. Wenn wir von dem bereits erwähnten Versuche P. Th. Müllers, dem es gelang, Typhusbakterien durch Züchtung auf immun-

serumhaltiger Bouillon so zu verändern, daß sie sowohl an Agglutinabilität als auch an Bindungsvermögen verloren, wegen der künstlich herbeigeführten Beeinflussung absehen, so wäre namentlich eine Arbeit von Hamburger zu erwähnen, nach dem eine spontan agglutinierende Cholerakultur kein Agglutinin bindet, und andererseits Versuche von Porges und Prantschhoff, die gezeigt haben, daß auch eine spontan agglutinierende Cholerakultur Agglutinin bindet, allerdings schwächer als die normale. Der Unterschied war aber, wie aus dem Versuchsprotokoll der beiden Autoren hervorgeht, kein beträchtlicher. Unsere Ergebnisse mit der spontan agglutinierenden Kultur stimmen also mit denen von Porges und Prantschhoff genügend überein.

Da wir aus unseren Versuchen den Schluß ziehen mußten, daß die stärkere oder schwächere Agglutinabilität eines Stammes nicht durch sein größeres oder geringeres Bindungsvermögen für Agglutinin begründet sein könne, mußten wir daran denken, daß diese Verhältnisse in der verschiedenen Ausflockbarkeit der Bakterienagglutininverbindung eine Erklärung finden. Insbesondere legte auch das Verhalten der Kaninchenimmunsera, die mit dem durch Pferdeimmunserum schwer agglutinablen Stamm Straßburg gewonnen waren, diesen Gedanken nahe, indem auch diese Sera den homologen Stamm Straßburg noch immer deutlich schwächer agglutinierten als z. B. die Stämme XIII, Conradi und 54. Wir haben daher die Fällbarkeit unserer verschiedenen Stämme durch gesättigte Ammonsulfatlösung geprüft.

Versuche von Porges haben nämlich ergeben, daß die Salzfällungsgrenzen in der Reihe Cholera, Typhus, Coli, Friedländer steigen, und daß sich dieselbe Reihe hinsichtlich des Widerstandes gegenüber den ausflockenden Kräften eines Immunserums ergibt; ferner konnte er zeigen, daß die auf 80° erhitzten Kulturen, die von Serum bekanntlich nicht oder in sehr geringem Maße agglutiniert werden, auch von Ammonsulfat am schwersten ausgeflockt werden.

Zur Bestimmung der Fällungsgrenzen gegen Ammonsulfat haben wir je 1 ccm der verschiedenen Bakterienaufschwemmungen mit abgemessenen Mengen einer gesättigten Lösung dieses Salzes versetzt. Die Röhrchen mit den Bakteriensalz-

gemischen wurde 2 Stunden im Brutschrank und über Nacht im Kühlschrank gehalten. Die Ablesung des Resultates erfolgte am nächsten Morgen. Von mehreren derartigen Versuchen, die immer ein gleichsinniges Ergebnis lieferten, soll in der folgenden Tabelle VIII je einer mit den Typhus- und Cholerastämmen wiedergegeben werden.

Tabelle VIII.

Typhus			Cholera		
Bakterienstamm	Menge der Salzlösung	Resultat	Bakterienstamm	Menge der Salzlösung	Resultat
Galle	1,0 ccm	trüb	Held	0,8 ccm	Flocken leicht trüb
	0,8 "	"		0,6 "	Flocken trüb
	0,5 "	"		0,4 "	Spur Ausflock. trüb
IV	1,0 "	klar	Hoffmann	0,8 "	Flocken leicht trüb
	0,8 "	Flocken fast klar		0,6 "	Flocken trüb
	0,5 "	trüb		0,4 "	Spur Ausflock. trüb
Drigalski	1,0 "	Flock. leicht trüb	Arab 3	0,8 "	klar
	0,8 "	Flock. mäß. trüb		0,6 "	"
	0,5 "	trüb		0,4 "	Flocken trüb
Conradi	1,0 "	klar	Karzellen	0,8 "	klar
	0,8 "	"		0,6 "	"
	0,5 "	Flocken trüb		0,4 "	"
Strassburg	1,0 "	trüb	Z 10	0,8 "	klar
	0,8 "	"		0,6 "	Flocken trüb
	0,1 "	"		0,4 "	Spur Ausflock. trüb
VI	1,0 "	Flocken trüb	Saigon K	0,8 "	Flocken fast klar
	0,8 "	trüb		0,6 "	Flocken trüb
	0,5 "	"		0,4 "	Spur Ausflock. trüb
54	1,0 "	klar	Saigon II	0,8 "	fast klar
	0,8 "	Flocken fast klar		0,6 "	Flocken trüb
	0,5 "	Flocken trüb		0,4 "	Spur Ausflock. trüb
XIII	1,0 "	klar	Truka	0,8 "	klar
	0,8 "	Flock. leicht trüb		0,6 "	fast klar
	0,5 "	trüb		0,4 "	Flocken trüb
28	1,0 "	Flock. leicht trüb			
	0,8 "	Flocken trüb			
	0,5 "	trüb			

Diese Versuche haben ergeben, daß diejenigen Typhusstämmen, wie Galle, Straßburg, VI, welche vom Serum wenig beeinflußt werden, auch von der Salzlösung schwächer ausgeflockt werden, so daß ein vollständiger Parallelismus zwischen beiden Phänomenen besteht. Bei der Ausflockung der Cholera-
 stämme durch Ammonsulfat waren keine deutlichen Unter-

schiede in dem angegebenen Sinne festzustellen, jedoch waren auch die Differenzen in der Agglutinabilität durch Serum keine beträchtlichen und haben sich die Cholerasträmme, wie ja bereits Porges gefunden hat, gegen Salzlösungen empfindlicher als Typhussträmme erwiesen. Möglicherweise kommen bei der Ausflockung der Vibrionen noch andere Faktoren in Betracht, wofür auch die gute Agglutinabilität frischer Cholerasträmme zu sprechen scheint. Bemerkenswert ist aber, daß der zum Teil spontan agglutinierende Stamm Karzellen auch von der Salzlösung am vollständigsten ausgeflockt wurde. Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, daß die größere oder geringere Agglutinabilität verschiedener Stämme nicht durch ihr Bindungsvermögen für Agglutinin bedingt wird, sondern durch den Grad ihrer Ausflockbarkeit. Diese ist, wie die Untersuchungen von Porges gezeigt haben, von dem Proteinreichtum des betreffenden Stammes abhängig; mit der Menge des Bakterienproteins wächst auch die Stabilität der Aufschwemmung. Das Bindungsvermögen für Agglutinin hingegen steht in keiner Beziehung zu diesem Verhalten, sondern dürfte durch die feinere, allen Stämmen einer Art gemeinsame Struktur des Bakterienplasmas bedingt sein.

Zusammenfassung.

Verschiedene Bakteriensträmme einer Art, gut und schlecht agglutinable, sind imstande, gleichviel Agglutinin zu binden, dagegen werden die schlecht agglutinablen Stämme von Ammonsulfat weniger leicht ausgeflockt.

Der größere oder geringere Agglutinabilität eines Bakterienstammes durch Serum ist demnach nicht durch eine stärkere oder schwächere Bindung von Agglutinin verursacht, sondern bloß abhängig von der Fähigkeit dieses Stammes, ausgeflockt zu werden, also von der zweiten Phase des Agglutinationsphänomens.

Literatur.

- Hamburger, Wien. klin. Wochenschr., 1903.
 Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2, und Zeitschr. f. Immunitätsf., 1909.
 Porges, O., Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 39 u. 40, 1905.
 — und Prantschoff, Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 41, 1906.

Nachdruck verboten.

[Aus der Königlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt
Saarbrücken (Leiter: Dr. Prigge).]

Ein Beitrag zur Biologie des Typhusbacillus.

Von Stabsarzt Dr. **Schlemmer**,
früher kommandiert zur Anstalt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Januar 1911.)

Ueber die Bedeutung der Bakteriolyse im Verlaufe des Typhus abdominalis sind die Ansichten der einzelnen Forscher noch sehr geteilt. Während Pfeiffer und seine Anhänger den bakteriziden Immunstoffen des Serums eine ausschlaggebende Rolle bei der Ueberwindung der Infektion zuschrieben, behauptete namentlich die französische Schule unter Führung von Metschnikoff, daß die Vernichtung der Bakterien im Tierkörper wesentlich durch die Leukocyten erfolge. Die humorale Bakterizidie sei nur im Laboratoriumsversuch wirksam, für den Ablauf der Krankheit komme ihr keine Bedeutung zu.

In der Tat sind nun viele Beobachtungen gemacht, die sich mit der humoralen Theorie schwer in Einklang bringen lassen.

Schon in ziemlich frühen Stadien des Typhus erwirbt das Serum des befallenen Menschen ausgesprochen bakterizide Eigenschaften; und doch geht die Krankheit weiter, ja trotz hohen bakteriziden Titors des Serums kann die Krankheit tödlich enden. Noch merkwürdiger erschien es, daß man aus dem Blute Typhöser die Bacillen züchten lernte, obwohl das Blutserum stark bakterizid wirkte. Man nahm anfangs an, daß die bakterizide Serumwirkung durch Vermischen des Blutes mit dem betreffenden Nährboden aufgehoben würde. Daß das nicht richtig ist, geht aus Versuchen von Eppstein und Korte hervor. Sie vermischten Blut eines Typhuskranken mit Natriumcitrat und verhinderten es so am Gerinnen. Die in diesem Blut enthaltenen Typhusbacillen blieben nicht nur am Leben, sondern vermehrten sich sogar, obwohl das Blutserum eingesäte Typhusbacillen anderer Herkunft abtötete.

Die vielfach geäußerte Ansicht, die Bakterizidie träte nur bei der Gerinnung des Blutes in Erscheinung, ließ sich nicht aufrecht erhalten, seitdem wir wissen, daß man die Typhusbacillen aus Blutgerinnseln züchten kann, ein Verfahren, das ja jetzt allgemein zur Diagnosestellung angewendet wird.

Alle diese Beobachtungen lassen nur eine Erklärung zu: die Typhusbacillen werden im Tierkörper unempfindlich gegen die Einwirkung des Serums, sie werden serumfest. Diese Erkenntnis hat dazu geführt, von zwei Typen desselben Bacillus zu sprechen, von Kulturbacillen und tierischen Bacillen.

Sehr nahe liegt nun die Schlußfolgerung, wenn die Bacillen im Tierkörper gegen die bakteriziden Serumstoffe unempfindlich sind, so ist die Bakterizidie für das befallene Individuum eine völlig gleichgültige Einrichtung. Am schärfsten hat sich wohl Bail in diesem Sinne ausgesprochen. Er infizierte Meerschweinchen mit Typhus intraperitoneal, aus dem Bauchhöhlenexsudat gewann er durch Zentrifugieren die Bacillen und prüfte sie im bakteriziden Reagenzglasversuch. Sie erwiesen sich als serumfest, obwohl die Ausgangskultur von demselben Serum stark beeinflusst wurde.

Sehr interessante Beiträge zu unserer Frage haben Friedberger und Moreschi sowie Besserer und Jaffé geliefert. Die genannten Autoren beschrieben Typhusstämme, die auch in der Kultur serumfest waren.

Diese Beobachtungen sind von großer Bedeutung; wir finden hier Bacillenstämme vor, die dauernd in einer sehr wesentlichen biologischen Eigenschaft mit den tierischen Bacillen übereinstimmen; ein näheres Studium derartiger Stämme kann uns daher vielleicht Aufschluß darüber geben, wodurch das „Tierischwerden“ der Bacillen verursacht ist. Es ist ferner praktisch von einiger Bedeutung, zu wissen, ob derartige serumfeste Stämme häufiger vorkommen oder ob sie nur ein Kuriosum darstellen. Die bisher angewendeten Schutzimpfungsverfahren gegen Typhus zielen ja in erster Linie ab auf Erzeugung einer bakteriziden Immunität und diese muß naturgemäß gegenüber serumfesten Stämmen versagen.

Die folgenden Untersuchungen sollen einen Beitrag zur Beantwortung der angedeuteten Fragen liefern. Ich habe 59 Typhusstämme auf ihr Verhalten gegen die bakteriziden Serumstoffe im bakteriziden Reagenzglasversuch geprüft.

Der Reagenzglasversuch wurde aus drei Gründen gewählt. Einmal stößt die Beschaffung eines für so ausgedehnte Untersuchungen notwendigen Tiermaterials an kleineren Instituten auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Sodann werden durch den Reagenzglasversuch feinere Unterschiede aufgedeckt, als durch den Tierversuch und es kam mir bei meinen Untersuchungen nicht nur darauf an, überhaupt serumfeste Stämme zu finden, sondern ich wollte feststellen, ob sich zwischen serumfesten und serumempfindlichen Stämmen Uebergänge finden, ob also die Serumfestigkeit auf wesentlich neuen, den serumempfindlichen Stämmen nicht eigentümlichen Eigenschaften beruht, oder ob sie nur eine Steigerung auch anderen

Stämmen zugehöriger Eigentümlichkeiten darstellt. Endlich sind im Tierversuch, wie wir aus Neufelds und seiner Mitarbeiter Forschungen wissen, sowohl bakterizide als auch bakteriotrope Serumstoffe wirksam; die Verhältnisse werden daher viel komplizierter.

Versuchsanordnung und Technik.

a) Identifizierung und Reinzüchtung.

Die folgenden Versuchsergebnisse können nur dann verwertet werden, wenn über die Reinheit der verwendeten Kulturen nicht der geringste Zweifel bestehen kann; es ist ja klar, daß jede Verunreinigung im Plattenversuch eine wenigstens relative Serumfestigkeit des Stammes vortäuschen muß. Ich will daher mit einigen Worten auf die Identifizierung und Reinzüchtung der verwendeten Bakterienstämme eingehen. Als Typhus habe ich eine Kultur angesprochen, die auf der Drigalski-Conradi-Platte typisch wächst, Rotbergerschen Neutralrotagar nicht verändert, Lackmusmolke leicht rötet und nicht trübt und in Immunserum (Titer $1/4000$) bei einer Verdünnung von $1/1000$ in einer halben Stunde kräftig agglutiniert wird, während in einer Kochsalzkontrolle keine Agglutination eintritt.

Die verwendeten Kulturen wurden möglichst kurze Zeit nach ihrer Isolierung untersucht, da es wahrscheinlich ist, daß durch längeres Umpflanzen auf künstlichen Nährböden die Empfindlichkeit gegen die Bakteriolysine zunimmt. Immerhin hatten die Stämme in der Regel 7–8 Nährbodenpassagen durchgemacht, wenn sie zur Untersuchung kamen. Die im Untersuchungsbetrieb mittels der Blauplatte isolierten Kulturen wurden zunächst nochmals über die Lackmus-Milchzuckerplatte geschickt. Dabei wurde Wert darauf gelegt, daß die verwendeten Platten nach dem Gießen sofort zugedeckt wurden. Bei der meistens geübten Methode, die gegossenen Platten $1/4$ Stunde lang offen stehen zu lassen, besteht die Gefahr, daß Luftkeime auf die Platte fallen, die zwar durch das Kristallviolett gehemmt werden, beim Abstechen einer isolierten Kolonie aber mit übertragen werden und nun sich auf dem gewöhnlichen Nähragar entwickeln. Nachdem die Platten beschickt sind, werden sie zum Trocknen mit der Schichtseite nach unten schräg auf die Kante des Deckels gelegt. Nach Trocknung und folgender 24-stündiger Bebrütung wird eine gut isolierte Kolonie abgestochen und auf Platten von gewöhnlichen Nähragar ausgestrichen; von diesen Platten wird nach Bebrütung eine Kolonie abgestochen und auf Schrägagar übertragen. Eine Anzahl serumfester Stämme wurde außerdem noch wiederholt durch Gelatinemischkultur isoliert (z. B. Stamm Kaufmann).

Als eine vorzügliche Kontrolle der Reinheit einer Typhuskultur hat sich uns stets die Lackmusmolke bewährt. Sie wird von Typhusbacillen leicht gerötet und bleibt vollständig klar. Bei sehr reichlicher Einsaat sieht man an den Röhrchen bisweilen nach 24 Stunden, wenn man sie am Fensterkreuz vorbei bewegt, eine ganz geringe Opaleszenz, die allerdings nie entfernt so deutlich ist, wie beim Paratyphus B. Läßt man die

Röhrchen einige Tage stehen, so werden sie vollständig klar und haben einen schönen roten Farbenton angenommen. Sie bleiben nun dauernd unverändert, nur wird bei langem Stehen der Farbenton etwas dunkler, wohl eine Folge der Eintrocknung. Ich habe die Röhrchen lange Zeit, zum Teil über 6 Monate beobachtet; jede Verunreinigung zeigt sich in der Lackmusmolke durch Trübung oder Farbumschlag, Kahmhautbildung, Entfärbung oder ähnliches an. Außer dem Paratyphus A, der praktisch als Verunreinigung wohl nicht in Frage kommt, gibt es sicher nur sehr wenige Bakterienarten, die in Lackmusmolke wie Typhus wachsen. Ich habe daher auch meine Stämme immer von Zeit zu Zeit wieder in Lackmusmolke übertragen; wachsen sie da typisch, so sind sie mit hoher Wahrscheinlichkeit rein.

Bei einigen Versuchen kam es mir darauf an, die Bakterien nach möglichst wenigen Kulturpassagen zu untersuchen. Ich ging dabei so vor, daß ich von der Blauplatte, auf der der betreffende Stuhl ausgestrichen war, eine isolierte Kolonie direkt in Bouillon übertrug und die Bouillonkultur im bakteriziden Versuch verarbeitete. Dabei mußte durch besondere Kontrollen dargetan werden, daß die verwendete Kultur eine Typhuskultur und daß sie rein war. Zu diesem Zwecke wurde mit der Bouillonkultur ein Schrägagarröhrchen (zur Agglutination), ein Neutralrotagarröhrchen und ein Lackmusmolkenröhrchen beimpft. Wuchs die Kultur typisch in Lackmusmolke, so war die Wahrscheinlichkeit einer Verunreinigung damit schon sehr gering. Außerdem wurde von der Bouillonkultur je eine Oese auf 2 Nähragarplatten und 2 Drigalski-Conradi-Platten ausgestrichen, wobei auf Vermeidung von Verunreinigung durch Luftkeime, wie oben geschildert, Bedacht genommen wurde. Nach 24-stündiger Bebrütung wurden die Platten genau durchgemustert, eine größere Anzahl der gewachsenen Kolonien durch Deckglasagglutination identifiziert. Schließlich wurden nach Anstellung des bakteriziden Versuches von der Platte, auf der am wenigsten Keime gewachsen waren, auf der also etwaige Verunreinigungen hätten am meisten überwiegen müssen, mindestens 20 Kolonien abgestochen und hinsichtlich ihres Wachstums auf der Blauplatte und mittels Deckglasagglutination geprüft.

Ich glaube mit diesen Kontrollen die Möglichkeit einer Verunreinigung bei den betreffenden Versuchen ausgeschlossen zu haben.

b) Bakterizider Reagenzglasversuch.

Der Ausfall des bakteriziden Reagenzglasversuches wird wesentlich beeinflusst durch eine Reihe unberechenbarer Faktoren. Vor allen Dingen ist der Gehalt des Normalserums an Komplement recht schwankend¹⁾, auch geringe

1) Die Beobachtung Cohns, daß das Kaninchenserum im Winter wirksamer ist als im Sommer, habe ich durchaus bestätigt gefunden.

Schwankungen in der Zusammensetzung der physiologischen Kochsalzlösung, in der Zusammensetzung und namentlich in der Reaktion der verwendeten Bouillon beeinflussen den Ausfall des Versuches. Es ist daher nicht angängig, die verschiedenen Stämme an verschiedenen Tagen gegen dasselbe Serum auszuwerten und die Versuchsergebnisse miteinander zu vergleichen; man muß immer mehrere Stämme zugleich mit denselben Reagentien und demselben Komplement verarbeiten; unter den verarbeiteten Stämmen muß sich einer befinden, dessen Eigenschaften bekannt sind. Nur die Ergebnisse derselben Versuchsserie können miteinander verglichen werden.

In der Technik habe ich mich im wesentlichen an frühere Untersucher angeschlossen. Es werden zunächst die Verdünnungen des Immunserums mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Zur Herstellung der Kochsalzlösung darf nur chemisch reines Kochsalz verwendet werden. In der Regel habe ich folgende Verdünnungen angesetzt: $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{800}$, $\frac{1}{1600}$, $\frac{1}{3200}$, $\frac{1}{6400}$. Der Titer mancher verwendeten Sera war höher als $\frac{1}{6400}$; da aber Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der Kulturen wesentlich in den wirksameren Konzentrationen zutage treten, habe ich auf die Herstellung weiterer Verdünnungen in den meisten Versuchen verzichtet. Jedes Röhrchen enthält nun 1 ccm der betreffenden Serumverdünnung. Dazu fügte ich je 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung und 0,5 ccm verdünnten frischen Normalserums. Die Bakterienaufschwemmung wurde hergestellt durch Verteilen einer Normalöse Bouillonkultur in 10 ccm Bouillon. Als Komplement wurde Kaninchenserum verwendet, das Blut wurde mit steriler Spritze aus einer Ohrvene entnommen. Vor der Verwendung muß das Serum durch Zentrifugieren sorgfältig von Blutkörperchen befreit werden; das ist wichtig zum Ausschalten der Wirkung bakteriotroper Stoffe. Außer den Serumverdünnungen wurden noch folgende Kontrollen angesetzt. Sowohl Immunserum wie Komplement müssen durch Aussaat in Agar auf Sterilität geprüft werden. Erweist sich eins der verwendeten Sera als nicht steril, so ist der Versuch unbrauchbar. Ein Röhrchen wurde beschickt mit 1,5 ccm Bouillon + 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung. Aus diesem Röhrchen wurde sofort und nach Bebrütung je 0,1 ccm zur Platte verarbeitet zur Ermittlung der Aussaat und des Wachstums in Bouillon während der Versuchszeit. Ein zweites Röhrchen wurde mit 1 ccm Kochsalzlösung, 0,5 ccm Komplementverdünnung und 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung, ein drittes mit 1 ccm der stärksten verwendeten Immunserumkonzentration, 0,5 ccm Bouillon und 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung beschickt. Durch diese letzte Kontrolle soll dargetan werden, daß die beobachtete Keimverminderung nicht etwa durch Agglutination vorge-täuscht ist.

In den Tabellen habe ich der Uebersichtlichkeit halber nur Aussaat und Komplementkontrolle mitgeteilt, da nur sie für die Beurteilung der Versuche von Wichtigkeit sind. Selbstverständlich waren in allen angeführten Versuchen Immunsorum und Komplement steril.

Nachdem aus der Bouillonkontrolle 0,1 ccm zur Platte verarbeitet ist, kommen die beschickten Röhren für 3—4 Stunden in den Brutschrank bei 37°. Dann werden sie zu Platten verarbeitet. Um Flächenwachstum in dem am Plattenboden und an der Agaroberfläche sich bildenden Kondenswasser zu vermeiden, was das Zählen der Platten sehr erschweren würde, wird der Boden der Platte mit sterilem Agar ausgegossen, auf die Agarfläche kommt der mit Agar vermischte Inhalt des Versuchsröhrchens, nach dem Erstarren wird die Platte nochmals mit sterilem Agar überschichtet. Zum Unter- und Ueberschichten verwendet man zweckmäßig eine Lösung von Agar in Wasser ohne weitere Zusätze. Dieser Wasseragar wird 2—3 Tage bei 60° flüssig gehalten, es bildet sich dann ein flockiger Niederschlag; der Agar wird dann durch steriles Wattefilter filtriert, aufgekocht und sofort verwendet; er ist dann wasserklar und durchsichtig.

Aus jedem Versuchsröhrchen wird mit steriler, in $\frac{1}{100}$ ccm eingeteilter Pipette 0,1 ccm entnommen, in ein Röhrchen mit flüssigem, auf 44° abgekühlten Nähragar gegeben, gut mit dem Agar vermischt und zur Platte ausgegossen. Dabei ist eine kleine technische Schwierigkeit hinderlich. In dem in der üblichen Weise durch Watte filtrierten, in Röhrchen abgefüllten Nähragar bildet sich beim dreimaligen Sterilisieren ein dichter weißlicher Niederschlag, der sich am Boden des Reagierglases absetzt. Beim Ausgießen des Agars verteilt sich der Niederschlag in Form von dicken Flocken über die ganze Platte, wodurch das Zählen der Platte außerordentlich erschwert wird. Man vermeidet diesen Uebelstand leicht durch einen Kunstgriff: Die verflüssigten, auf 60° abgekühlten Agarröhrchen werden aufrecht in einen Drahtkorb gestellt und dieser wird für 2 Minuten 1—2 cm tief in ein Wasserbad eingetaucht. Dabei erstarrt der Agar in der Kuppe des Reagierglases und die überstehende flüssige Schicht bleibt klar.

Ich habe bei meinen Versuchen einen verhältnismäßig kleinen Teil des Versuchsröhrchens (0,1 ccm) verarbeitet. Es ist natürlich viel bequemer, das ganze Röhrchen auszugießen; es hat diese Methode auch den prinzipiellen Vorteil, daß man die Versuchsreihe sehr viel schneller verarbeiten kann, daß also nicht in den letzten Röhrchen eine erhebliche Keimvermehrung noch während des Plattengießens eintritt; die Methode ist aber praktisch nur durchführbar bei verhältnismäßig leicht bakteriolysierbaren Stämmen.

Die beschickten Platten werden nach 18—24-stündigem Bebrüten (37°) gezählt. Neufeld und Hüne geben an, daß eine Anzahl Kolonien sich verzögert entwickelt, daß man daher die Platten nach längerem Bebrüten nochmals zählen müsse. Ich kann diese Angabe nicht bestätigen. Bei wiederholten Stichproben stimmten die nach 48 Stunden erhaltenen Zahlen

gut mit den nach 24 Stunden festgestellten überein. Dies verschiedene Verhalten erklärt sich wohl daraus, daß die genannten Autoren bei ihren Versuchen Gelatine verwendeten und daß das verzögerte Wachstum wesentlich der für Typhusbacillen nicht optimalen Temperatur, bei der die Platten bewachsen mußten, zur Last zu legen ist. Es ist allerdings nötig, alle Platten, auch die auf den ersten Blick steril erscheinenden, auf dem Wolfshügelschen Zählapparat mit der Lupe zu durchmustern, da kleine Kolonien dem bloßen Auge entgehen.

c) Bindungsversuch.

Auch bei den Bindungsversuchen wurde Wert darauf gelegt, das betreffende Serum zugleich mit 2 Stämmen abzusättigen.

Es wurde in 3 Zentrifugiergläser je 0,25 ccm Serum gefüllt, dazu wurde in 2 Röhrchen so viel Kochsalzlösung und Abschwemmung der 2 zu untersuchenden Kulturen zugefügt, daß eine Verdünnung des Serums von $\frac{1}{10}$ entstand. Zum 3. Röhrchen wurde 2,25 ccm Kochsalzlösung zugefügt, so daß auch in der nicht abgesättigten Serumprobe eine Verdünnung von $\frac{1}{10}$ hergestellt war. Alle 3 Proben kamen für 1 Stunde in den Brutschrank bei 37°. Es ist nötig, die Röhrchen häufig zu schütteln, da die einzelnen Stämme verschieden stark agglutiniert werden und so auf rein mechanischem Wege Unterschiede in der Bindungsfähigkeit der einzelnen Kulturen vorgetäuscht werden. Nach einstündigem Aufenthalt im Thermostaten wurden die 3 Röhrchen 1 Stunde zentrifugiert. Von den die abgesättigten Proben enthaltenden Röhrchen wurde das Zentrifugenklar abgehebert, alle 3 Serumproben (die beiden abgesättigten und die nicht abgesättigte) kamen für 30 Minuten in ein Wasserbad von 58°. Es ist das nötig, da auch das für das Auge völlig klare Zentrifugat noch eine Anzahl Bacillen enthält; durch Kontrollen überzeugt man sich davon, daß nunmehr die Serumproben tatsächlich steril sind.

Versuchsergebnisse.

Zur Untersuchung gelangten 59 Kulturen, und zwar stammten 37 von Bacillenträgern, 22 von Patienten. Von den Patienten hatten sich 5 an Bacillenträgern infiziert; davon ist eine Patientin auch ihrerseits Bacillenträgerin geblieben (Frau Schneider, No. 38, Tab. I). Die 59 Kulturen stammen von 45 Personen und sind meistens aus dem Stuhl isoliert. 6 Patientienstämme sind aus Blut gezüchtet, bei 3 von diesen Stämmen kam auch die zugehörige Stuhlkultur zur Untersuchung. Bei mehreren Bacillenträgern wurden aus dem Stuhl desselben Trägers zu verschiedenen Zeiten Typhusbacillen isoliert und

die Stämme, der längere Zeit fortgezüchtete und der frisch isolierte, miteinander verglichen (No. 3 und 4, No. 16 und 17, No. 24—26, No. 27 und 28, Tab. I). In einem Falle wurden aus derselben Stuhlprobe 6 verschiedene Stämme isoliert und geprüft (No. 18—23, Tab. I).

Tabelle I.
A. Bacillenträger.

No.	Name	Zahl der veranlaßt. Kontakte	Bemerkungen	Enthalten in Versuch Tabelle II: No.
1	Frau Roos	2		1, 10
2	" Kaufmann	—	Gestorben an sept. Cholangitis	1, 4, 7, 18
3	Frl. Ohlig I	—		2, 19
4	" " II	—		19, 23
5	Herr Rheinstadler	—		3
6	Frau Scherz	5		3, 6
7	" Merkle	4		20
8	" Berwanger	—		7
9	" Zemborsky	3		7, 9, 12—16, 18, 22—28
10	" Bastian	1		20
11	" Lydorf	—		16
12	Catharine Schmidt II	—	Vergl. No. 42	17
13	Frau Geppert	3		6
14	" Rauber	3		6, 20
15	" Misere	2		8
16	" Hör I	1	Isoliert Juni 1909	13, 18
17	" " II	—	Isoliert Dezember 1909	18
18	" " III A	—		23
19	" " III B	—		23
20	" " III C	—	Isoliert Januar 1910 aus einer Stuhlprobe	21
21	" " III D	—		21
22	" " III E	—		21
23	" " III F	—		21
24	" Quarz I	1		19, 28
25	" " II	—		28
26	" " III	—		19
27	Helene Rickelt I	—		17
28	" " II	—		17
29	Franz Krämer	—		12
30	Frau Staudt	2	Hat No. 43 infiziert	9, 11
31	" Wollscheid	2		27
32	" Kraemer	2	Hängt nicht mit No. 29 zu- sammen	14
33	Herr Wüst	1	Hat No. 55 infiziert	13
34	" König	—		10
35	Frau Beilstein	1	Hat No. 49 infiziert	16
36	" Krob	1		24
37	" Fiak	1		15

B. Patienten.

No.	Name	Bemerkungen	Enthalten in Versuch No. Tabelle II
38	Frau Schneider	Kontakt No. 32, ist Bacillenträgerin geblieben	1, 2, 3, 4, 5
39	Herr Kappenrath		4
40	Frieda Schmidt St. Bl.		5, 10
41	" " Bl.		5, 10
42	Kath. Schmidt I	Bacillenträgerin geblieben, cf. No. 12	5, 8, 17
43	Oberle St.	Kontakt No. 30, gestorben	11
44	" Bl.		11
45	Conrad Hör	Kontakt No. 16	13
46	Frl. Köhl	Mit No. 40 und 42 eine Kontaktkette	14
47	Maria Bruch		14
48	Johann Speicher		28
49	Jakob Beilstein		16
50	Frau Thiery		22
51	Herr Bl.		22
52	Frau Lauer Bl.	Kontakt No. 43, gestorben	22
53	Adolf Müller Bl.		24
54	Heinrich Krack	Ist Bacillenträger geblieben	25
55	Frau Hertel	Kontakt No. 33	25
56	August Späth		27
57	Willy Rausch	Bacillenträger geblieben	25, 26
58	Clara Killus St.		26
59	" " Bl.		26

Immunsera.

No.	Herkunft	Bemerkungen
1	Frau Kaufmann	14 Tage ante mortem entnommen. Bacillenträgerin
2	Frau Kaufmann, Leichenblut	† an septischer Cholangitis, verursacht durch Bact. coli Stamm No. 2
3	Katharina Schmidt	Patientin, Stamm No. 42, 2 Blutentnahmen
4	Frieda Schmidt	Patientin, Stamm No. 40, 41
5	Frau Berwanger	Bacillenträgerin No. 8
6	" Staudt	No. 30
7	Wilhelm Büchel	Patient "
8	Oberle	Patient, Stamm No. 43 u. 44, gestorben
9	Kaninchenserum Kaufmann	Immunisierung mit Stamm No. 2
10	" Hör	" " " No. 16
11	" Zemborsky	" " " No. 9

In Tabelle I sind die untersuchten Kulturen zusammengestellt. Die aus Blut isolierten tragen die Bemerkung Bl, alle übrigen stammen aus dem Stuhl. Bei den Bacillenträgern ist die Zahl der durch den betreffenden gesetzten Kontakte

Tabelle II.

No.	Serum	Komplement	Stamm	Aus- saat	Komple- ment- Kontrolle	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/1000	1/3200	1/6400
1	Frau Kaufmann	0,1	Frau Roos " Schneider " Kaufmann	1323 1575 1197	∞ ∞ ∞		2 079 43 17 000	1 008 45 17 000	529 200 17 000	3 276 1 827 22 500	∞ 945 ∞	∞ 3 465 ∞	∞ ∞ ∞
2	dgl.	0,1	Frl. Ohlig I. Frau Schneider	2016 1789	∞ ∞		863 15	749 154	1 316 69	4 800 1 386	36 000 25 200	36 000 ∞	55 200 ∞
3	Cath. Schmidt I. Entnahme	0,1	Frau Schneider Rheinstadler Scherz	2047 1789 2205	5 733 6 678 27 000		1 146 2 520 504	183 207 308	163 125 20	46 325 27	819 800 314	3 906 1 156 4 788	5 405 2 646 8 290
4	Frau Kaufmann Leichenblut	0,1	Kappenrath Kaufmann Schneider	2079 1845 1323	∞ ∞ ∞		68 67 200 223	40 ∞ 397	1 040 ∞ 7 245	24 000 ∞ 99 000	95 100 ∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞
5	Cath. Schmidt II. Entnahme	0,1	Frieda Schmidt St. Bl. " Kath. Schmidt I Frau Schneider	4050 5040 7497 1702	8 700 13 500 45 300 20 700		9 300 8 400 20 700 12 600	26 4 800 12 300 10 800	3 359 11 700 12 900 3 654	6 900 12 000 22 200 7 500	13 500 21 600 39 300 15 000	13 200 29 400 24 000 18 300	2 709 24 900 46 800 19 800
6	Kath. Schmidt II. Entnahme	0,05	Geppert Rauber Scherz	1953 1827 2268	36 300 53 700 84 000		31 500 12 000 39 600	20 700 4 200 9 300	20 700 6 300 3 213	21 300 9 000 15 000	26 100 22 200 30 300	33 000 66 600 74 700	34 500 64 800 80 100
7	Berwanger	0,1	Berwanger Kaufmann Zemborsky	1978 1575 1984	32 400 30 900 11 700		118 17 100 34	1 575 20 100 838	13 500 27 000 2 609	26 100 28 800 9 900	30 300 37 200 5 400	28 800 45 000 5 400	34 200 37 200 10 800
8	Frieda Schmidt	0,1	Kath. Schmidt I Fr. Misere	1512 2240	162 600 > 150 000	15 000 102 000	18 000 121 200	9 600 99 000	6 900 121 200	27 000 142 200	32 400 141 600	76 800 123 600	81 000 190 800
9	Frau Staudt	0,1	Fr. Staudt Zemborsky	2016 2835	78 ∞		2 772 2 012	3 402 2 520	12 300 6 900	27 600 25 800	110 400 51 000	80 400 51 600	98 400 65 400
10	Wilh. Büchel I. Entnahme	0,1	König Frieda Schmidt Bl. " St. Frau Roos	2961 2079 2205 2961	∞ 105 600 133 200 ∞	9 600 276 184 117	48 300 3 087 1 953 1 890	171 600 15 000 12 300 8 700	∞ 21 000 17 100 29 700	∞ 34 200 20 400 70 800	∞ 32 700 30 600 198 000	∞ 52 200 68 400 ∞	∞ 76 200 75 000 ∞

11	Wilh. Büchel II. Entnahme	0,1	Oberle St. Bl.	2268	∞	3 402	18 300	43 200	114 000	235 200	∞	∞
			Frau Staudt	2520	∞	52 500	28 500	61 200	139 800	274 800	∞	∞
				3024	∞	16 800	25 500	69 300	99 000	188 400	∞	∞
12	dgl.	0,1	Franz Kraemer	2898	120 600	23 100	25 800	44 400	79 800	104 400	127 200	124 800
			Zemborsky	2772	25 200	4 095	3 780	13 500	13 800	17 100	21 600	21 900
13	dgl.	0,1	Frau Hör I	2016	12 600	0	2	1	87	2 079	6 300	9 900
			Konrad Hör	4032	165 600	9 324	9 000	37 800	57 000	138 000	124 800	116 400
			Herr Wüst	6237	146 400	3 213	4 977	9 000	29 700	18 300	67 200	78 000
			Zemborsky	4032	41 400	3 906	5 544	21 900	28 500	33 300	42 300	31 800
14	dgl.	0,1	Frau Kraemer	3213	175 200	376	3 213	20 400	53 400	79 800	112 800	148 800
			Frl. Köhl	2646	134 400	3 780	13 500	20 100	44 400	79 800	102 600	136 800
			Maria Bruch	2772	163 200	15 900	21 000	29 400	54 300	87 600	97 800	128 000
			Zemborsky	2646	51 000	504	1 701	9 900	16 200	36 600	42 600	49 200
15	dgl.	0,1	Frau Fiak	3213	127 800	3 591	16 800	33 600	61 800	88 800	63 000	135 000
			Zemborsky	2898	34 800	4 032	11 100	16 800	24 600	24 000	31 500	20 700
16	Oberle	0,1	Frau Beilstein	3024	184 800	308	194	676	2 268	6 600	24 300	43 500
			Jakob Beilstein	3150	156 600	290	148	634	2 079	5 700	20 100	34 800
			Lydorf	4032	274 200	4 347	8 100	20 100	38 400	69 600	105 000	182 400
			Zemborsky	3906	47 700	49	44	103	448	1 827	10 800	14 700
17	Kan.-Ser. Hör	0,1	Kath. Schmidt I	2142	23 400	15 900	4 284	2 394	1 890	2 016	3 654	3 906
			" II	1827	23 100	18 000	9 600	5 100	2 205	1 575	2 268	1 927
			Rickelt I	2709	327 600	96 000	33 300	24 000	85 200	20 400	17 700	4 440
			" II	2457	64 200	64 200	33 000	15 000	11 400	6 900	12 900	7 500
18	Kan.-Ser. Kaufmann	0,05	Frau Hör I	1449	93 600	16	0	1	2	0	4	1 449
			" II	2142	324 200	61 800	3 654	819	1 260	7 800	27 000	23 700
			Frau Kaufmann	2079	183 000	126 600	120 000	132 600	141 000	165 000	180 600	246 600
			Zemborsky	2709	291 600	79 800	4 473	1 134	2 520	14 400	84 600	211 200
19	dgl.	0,05	Quarz I	1827	4 200	9 900	8 100	1 575	1 449	1 701	5 400	21 900
			" III	3591	67 800	20 400	6 600	819	756	567	6 000	21 000
			Ohlig I	3150	38 700	17 700	12 600	3 900	2 079	2 583	6 900	19 200
			" II	1890	19 500	36	25	5	94	1 890	9 300	8 700
20	dgl.	0,05	Merkle	693	75 000	50 400	45 900	45 900	40 200	45 000	50 400	53 400
			Bastian	630	44 700	6 600	6 300	9 000	6 300	14 400	15 600	31 200
			Rauber	756	69 000	7 500	9 600	5 700	9 300	16 200	33 300	57 600

N ^o	Serum	Komplement	Stamm	Aus- saat	Komple- ment- Kontrolle	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000
21	Kan.-Ser. Kaufmann	0,05	Frau Hör III C " " III D " " III E " " III F	1323 1323 1071 1764	66 600 68 800 85 800 73 200	32 100 58 200 125 400 75 600	12 600 45 300 91 800 60 000	5 700 21 000 74 400 31 200	5 400 15 900 66 600 41 100	4 500 14 100 55 200 41 100	10 500 17 400 53 400 24 000	9 000 11 400 60 600 29 100	31 200 52 800 75 600 54 000
22	dgl.	0,05	Frau Thiery Herr Bl. Frau Lauer Bl. Zemborsky	4536 4347 4536 2961	65 100 77 400 63 000 27 000	42 300 103 800 70 800 60 600	38 100 60 600 91 800 42 000	38 700 85 200 65 400 14 100	37 800 39 000 35 400 15 600	30 900 50 700 57 000 9 300	29 400 45 900 37 200 6 900	48 600 56 700 33 600 15 300	55 200 53 500 54 600 21 000
23	dgl.	0,05	Ohlig II Frau Hör III A " " III B Zemborsky	1701 2331 2079 2772	945 15 600 14 700 11 100	0 45 000 31 800 31 200	0 37 800 24 900 16 500	0 17 700 11 700 1 701	1 11 400 7 500 507	66 8 400 4 500 945	441 6 000 2 646 1 638	693 10 500 12 300 6 300	1 071 10 800 7 200 —
24	dgl.	0,05	Adolf Müller Frau Krob Zemborsky	3024 3402 3969	47 400 45 600 105 600	62 400 78 000 48 900	33 000 33 300 4 284	17 400 21 300 2 016	16 800 17 700 1 575	13 500 12 300 5 040	15 300 19 800 16 800	23 700 22 800 63 900	32 400 21 000 76 200
25	dgl.	0,05	Frau Hertel Heinr. Krack Willy Rausch Zemborsky	1890 600 3843 1512	37 800 17 700 53 100 42 000	34 500 12 600 14 400 3 780	15 000 1 323 2 583 388	6 300 882 1 134 380	6 600 1 890 1 512 400	6 000 1 638 — 344	7 500 3 087 2 457 1 701	9 300 3 654 14 400 13 200	21 300 4 473 22 200 30 300
26	dgl.	0,05	Willy Rausch Klara Killus St. " " Bl. Zemborsky	2142 4851 1701 2142	2 835 51 900 39 000 26 100	24 000 25 500 26 700 28 500	6 000 42 600 7 500 4 919	1 638 27 300 2 981 292	390 12 900 2 331 312	296 18 300 1 260 500	334 23 700 1 197 630	296 16 500 2 772 1 260	1 638 24 600 15 000 —
27	dgl.	0,05	Aug. Späth Fr. Wollscheid Zemborsky	2898 2079 4095	12 000 42 600 130 800	30 300 57 600 —	63 600 27 600 18 900	41 700 70 800 29 400	42 600 8 400 3 969	15 600 47 400 9 600	25 800 30 900 6 600	58 200 27 900 51 000	25 800 28 500 28 500
28	Bichel	0,1	Joh. Speicher Quarz I " II Zemborsky	3024 2709 3465 2709	20 700 40 200 49 500 16 500	496 274 2 079 819	756 560 2 754 1 953	1 764 4 662 10 800 2 700	2 276 10 200 24 600 3 591	9 900 14 700 30 300 9 900	13 500 24 900 42 000 6 900	12 600 32 700 55 500 12 000	13 500 40 800 48 600 —

vermerkt. Es erscheint auf den ersten Blick verlockend, die Zahl der durch den einzelnen Bacillenträger veranlaßten Infektionen in Beziehung zu setzen zur Bakteriolyzierbarkeit des betreffenden Stammes. Leider ist ein derartiger Vergleich nicht zulässig. Ob ein Bacillenträger infiziert oder nicht, hängt ja sehr wesentlich von seinen äußeren Verhältnissen — ein oft die Stelle wechselndes Dienstmädchen wird mehr Kontakte setzen, als eine zurückgezogen lebende alleinstehende Frau — und nicht zum kleinsten Teile von seiner Sauberkeit ab. Zudem entgehen ja auch im Gebiete der organisierten Typhusbekämpfung immer eine Anzahl von Fällen der Beobachtung, so daß wir vielleicht bei dem einen Bacillenträger alle durch ihn veranlaßten Infektionen aufdecken, während sie bei einem zweiten nur zum Teil zu unserer Kenntnis kommen.

Zur Prüfung der Stämme wurden teils Patientensera, einzelne Bacillenträgersera und 3 verschiedene von Kaninchen stammende Immunsera verwendet. Am Schluß der Tabelle I sind die Sera zusammengestellt, dort finden sich auch die entsprechenden Bemerkungen über ihre Herkunft.

In Tabelle II (p. 158—160) sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt. Bei der Beurteilung ist folgendes zu beachten: Die Zahlen der in den einzelnen Serumverdünnungen gewachsenen Keime sind nicht ohne weiteres vergleichbar. Einmal liegt das an der Technik. Da ich meistens 4 Stämme zugleich prüfte, dauerte das Verarbeiten der Versuchsröhrchen zu Platten etwa 45 Minuten. Es war also in den zuletzt verarbeiteten Röhrchen während des Plattengießens noch eine Keimvermehrung eingetreten; über deren Grad verschafft man sich ein Urteil, indem man aus dem ersten Versuchsröhrchen nach Schluß des Versuches nochmals eine Probe zur Keimbestimmung entnimmt. Die während des Plattengießens eingetretene Keimvermehrung war bei den einzelnen Stämmen außerordentlich verschieden, die in der zweiten Probe ermittelte Keimzahl war oft nur um 30 Proz., in einzelnen Fällen aber auch um das 7—8-fache höher als die der ersten Probe. Der zweite Grund, der es nicht gestattet, die einzelnen Keimzahlen direkt zu vergleichen, ist prinzipieller Natur.

Tabelle III.

No.	Stamm	Aus- saat	Vereh- rungs- quotient	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$
3	Frau Schneider	2047	2,3		498	79	71	20	356	1 698	2350
	Rheinstadler	1789	3,7		681	56	34	88	216	312	715
	Scherz	2205	12,2		42	24	2	2	26	399	690
5	Frieda Schmidt St.	4050	2,1		4650	13	1669	3450	6720	6 600	
	Bl. 5040		2,6		3230	1846	4500	4615	8308	11 308	9576
	Catharine Schmidt I	7497	6		3450	2050	2150	3700	6550	4 100	7800
	Frau Schneider	1702	12		1050	900	304	625	1250	1 525	1650
6	Geppert	1953	18		1750	1150	1150	1182	1450	1 833	1916
	Rauber	1827	29		413	144	217	310	765	2 296	2234
	Scherz	2268	37		1070	251	86	405	819	2 018	2164
7	Berwanger	1978	16,3			7	98	844	1631	1 800	2138
	Kaufmann	1575	20		855	1005	1350	1440	1860	2 250	1860
	Zemborsky	1984	6			6	139	434	1650	900	1800
10	Frieda Schmidt St.	2079	60,4	3	33	205	285	340	510	1 140	1250
	" " Bl.	2205	50,7	6	62	300	420	684	654	1 044	1524
12	Franz Kraemer	2898	41,6	550	614	1057	1900	2485	3029	2 343	2971
	Zemborsky	2772	9,4	455	420	1500	1533	1900	2400	2 533	2433
13	Frau Hör I	2016	6,2	0	0,3	0,1	15	347	1060	1 600	1650
	Konrad Hör	4032	41	227	220	922	1390	3366	3044	3 073	2839
	Herr Wüst	6237	23,4	140	216	391	1291	796	2922	3 391	4200
	Zemborsky	4032	10,2	390	554	2190	2850	3330	4230	3 180	3990
14	Frau Krämer	3213	54	7	61	391	1023	1530	2160	2 655	2852
	Frl. Köhl	2646	50	74	266	399	879	1578	2025	3 130	2705
	Maria Bruch	2772	60	266	350	490	905	1460	1630	1 900	2133
	Zemborsky	2646	19	26	89	521	852	1926	2242	2 431	2584
15	Frau Fiak	3213	39,8	90	423	845	1554	2216	1991	2 791	3392
	Zemborsky	2898	12	336	753	1400	2060	2000	2625	2 060	1725
16	Frau Beilstein	3024	61,2	5	3	11	37	107	397	712	835
	Jakob Beilstein	3150	49,7	6	3	13	42	115	410	702	1389
	Frau Lydorf	4032	68,2	64	117	295	564	1022	1540	2 662	3416
	Zemborsky	3906	12,1	4	4	9	37	151	893	1 214	1559
17	Catharine Schmid I	2142	11	1445	389	217	171	183	332	355	927
	" " II	1827	12,6	1428	762	404	175	125	180	100	153
	Rickelt I	2709	12,1	793	275	198	704	168	146	36	225
	" II	2457	26,1	2461	1269	577	438	265	496	288	415
20	Merkle	693	108	466	425	425	372	416	466	494	438
	Bastian	630	71	93	89	126	89	203	220	440	300
	Rauber	756	91	82	105	62	102	178	366	577	633
22	Frau Thiery	4536	14	3021	2721	2764	2700	2207	2100	3 471	4085
	Herr " Bl.	4347	18	5766	3366	4733	2166	2816	2550	3 150	3083
	Frau Lauer Bl.	4536	14	5057	6557	4671	2528	4071	2657	2 400	3900
	Zemborsky	2961	9	6733	4666	1566	1733	1033	766	1 700	2333

No.	Stamm	Aus- saat	Vermeh- rungs- quotient	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	$1/6400$
24	Adolf Müller	3024	16	3900	2062	1087	1050	844	956	1481	2025
	Frau Krob	3402	13	6000	2561	1638	1361	946	1523	1754	1615
	Zemborsky	3969	27	1811	158	74	58	186	622	2370	2822
25	Frau Hertel	1890	20	1725	720	315	330	300	375	465	1065
	Heinrich Krack	600	29	434	45	30	65	56	106	126	154
	Willy Rausch	3843	14	1028	184	81	108	—	175	1028	1585
	Zemborsky	1512	28	135	13	13	16	12	60	471	1082
26	Clara Killus St.	4857	11	2318	3872	2481	1172	1663	2154	1500	2236
	Bl.	1701	23	1160	326	129	101	55	52	120	652
	Zemborsky	2142	12	2375	409	24	26	41	52	105	—
28	Joh. Speicher	3024	6,8	72	110	257	332	1445	1970	1836	1970
	Quarz I	2709	14,8	18	38	314	688	993	1680	2203	2750
	II	3465	14,2	146	172	760	1728	2130	2950	3900	3410
	Zemborsky	2709	6	134	320	442	587	1620	1129	1962	—

Die Zahl der in den verschiedenen Versuchsröhrchen vorgefundenen Keime wird bei gleicher Einsaat bestimmt durch 2 Faktoren. Einmal durch die Zahl der im Versuche abgetöteten und sodann durch die Intensität der Vermehrung der übrig gebliebenen Keime. Diese Vermehrungsintensität ist, gleiche äußere Verhältnisse (Zusammensetzung der Nährmedien, Temperatur, Versuchsdauer) vorausgesetzt, bei den einzelnen Stämmen sehr verschieden, sie ist eine spezifische Eigentümlichkeit des betreffenden Stammes. Für den einzelnen Stamm ist diese Eigenschaft durchaus konstant; erweist sich z. B. in einem Versuch die Wachstumsgeschwindigkeit eines Stammes A größer als die eines Stammes B, so ist das auch bei allen Wiederholungen des Versuches der Fall. Die Unterschiede der Wachstumsgeschwindigkeit sind oft recht beträchtlich; es wäre nicht unmöglich, daß durch sie die Virulenz des Stammes mit beeinflußt würde.

Dividiert man nun in einem Versuche die Komplementkontrolle durch die Aussaat, so gibt der erhaltene Quotient an, um das Wievielfache sich die ausgesäten Bakterien bei Gegenwart von Komplement in der Versuchszeit vermehrt haben. Ich werde im folgenden diesen Quotienten kurz als Vermehrungsquotienten bezeichnen. Wie schon angedeutet, hängt die Größe des Vermehrungsquotienten einmal von der Versuchszeit ab, sodann aber auch von der spezifischen Wachs-

tumsgeschwindigkeit des einzelnen Stammes. Dividiert man nun alle Zahlen einer Versuchsreihe durch den Vermehrungsquotienten, so erhält man Zahlen, die angeben, wieviel Keime in den einzelnen Versuchsröhrchen vorhanden wären, wenn nur eine Abtötung, nicht aber zugleich eine Vermehrung der überlebenden Keime stattgefunden hätte.

Ein Beispiel soll die hier erörterten Dinge klar machen.

Tabelle IV.
Serum: Frau Berwanger, Komplement: 0,1.

Stamm	Aus- saat	Komple- ment- Kontrolle	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	$1/6400$
Berwanger	1978	32 400	118	1 575	13 500	26 100	30 300	28 800	34 200
Kaufmann	1575	30 200	17 100	20 100	27 000	28 800	37 200	45 000	37 200
Zemborsky	1984	11 700	34	838	2 609	9 900	5 400	5 400	10 800

Durch Division der Komplementkontrolle durch die Aus-
saat erhält man die Vermehrungsquotienten: Berwanger 16,3,
Kaufmann 19,6, Zemborsky 5,8.

Dividiert man die Versuchsreihen durch die entsprechen-
den Vermehrungsquotienten, so ergeben sich folgende Zahlen:

Tabelle V.

Stamm	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	$1/6400$
Berwanger	7	98	844	1631	1894	1800	2138
Kaufmann	855	1005	1350	1440	1860	2250	1860
Zemborsky	6	139	434	1650	900	900	1800

Vergleicht man die beiden Tabellen, so fällt folgendes
auf: Nach den nicht umgerechneten Versuchszahlen der
Tabelle IV könnte es scheinen, als ob der Stamm Berwanger
erheblich serumfester wäre, als der Stamm Zemborsky. Ein
Blick in Tabelle V lehrt, daß diese Serumfestigkeit nur durch
den größeren Vermehrungsquotienten des Stammes Berwanger
vorgetäuscht ist. Noch deutlicher tritt das in folgendem Ver-
suche hervor:

Tabelle VI.
Serum Büchel, Komplement 0,1.

Stamm	Aus- saat	Komple- ment- Kontrolle	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	$1/6400$
Zemborsky	2 772	25 200	4 095	3 780	13 500	13 800	17 100	21 600	22 800	21 900
Franz Krämer	2 898	120 600	23 100	25 800	44 400	79 800	104 400	127 200	98 400	124 800

Vermehrungsquotient: Zemborsky 9,4; Franz Krämer 41,6. Umgerechnet:

Stamm	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$
Zemborsky	455	420	1500	1533	1900	2400	2533	2433
Franz Krämer	550	614	1057	1900	2486	3029	2343	2971

Eine Beurteilung der Serumempfindlichkeit der einzelnen Stämme ist also nur möglich unter Vergleich der Aussaat und der Komplementkontrolle. Um die Uebersicht zu erleichtern, habe ich einen Teil der Versuche der Tabelle II in der beschriebenen Weise umgerechnet; die Ergebnisse sind in Tabelle III zusammengestellt. Die bei den einzelnen Serumverdünnungen eingetragenen Zahlen sind innerhalb desselben Versuches direkt vergleichbar, allerdings unter Berücksichtigung der Aussaat. Um Mißverständnissen vorzubeugen, muß ich hier noch eine Bemerkung über die Umrechnung der Versuche einschalten. Ich hatte oben gesagt, wenn man die in den einzelnen Serumverdünnungen festgestellten Keimzahlen durch den Vermehrungsquotienten dividiert, so erhält man Zahlen, die angeben, wieviel Keime in den einzelnen Versuchsröhrchen vorhanden wären, wenn nur eine Abtötung, nicht aber eine Vermehrung der überlebenden Keime eingetreten wäre. Das ist nun nicht etwa so zu verstehen, daß man durch Rechnung ermitteln könnte, wieviele der eingesäten Keime der Einwirkung des Serums widerstanden haben. Finde ich z. B. in Tabelle V, daß bei Stamm Zemborsky in Verdünnung $\frac{1}{50}$ 4095 Keime gezählt wurden, der zugehörige Vermehrungsquotient 9,4 beträgt, daß mithin die Division die Zahl 455 ergibt, so bedeutet das nicht etwa: von den 2772 eingesäten Keimen sind 2317 abgetötet, 455 sind am Leben geblieben und haben sich vermehrt. Wie ich mir den Mechanismus der Serumwirkung vorstelle, darauf soll an einer späteren Stelle der Arbeit eingegangen werden. Die Zahlen der Tabelle III bedeuten also im Grunde nur einen kurzen, in eine Zahl zusammengefaßten Ausdruck für die Intensität der Serumwirkung in der betreffenden Verdünnung.

Die meisten Stämme wurden wiederholt gegen verschiedene Serumproben ausgewertet¹⁾. Dabei zeigte es sich,

1) Um unnötige Wiederholungen zu vermeiden, habe ich in Tabelle II nur etwas über die Hälfte aller von mir angesetzten Versuche zusammen-

daß für den Ausfall der vorliegenden Versuche die Herkunft des Serums völlig gleichgültig ist, sofern das Serum überhaupt wirksam ist; serumfeste Stämme sind gegen alle Sera fest und serumempfindliche werden von allen Seris stark beeinflusst. Es ergab sich sogar die zunächst paradox erscheinende Tatsache, daß ein Bacillenträgerstamm (Kaufmann) von dem Serum der Trägerin sehr wenig beeinflusst wurde, während das Serum auf andere Stämme kräftig bakterizid wirkte. Ein mit demselben Stamm hergestelltes Kaninchenserum hatte gegen serumempfindliche Stämme einen guten bakteriziden Titer, während es den eigenen Stamm sehr wenig beeinflusste. (Versuch 1, 2, 4, 18, Tab. II.)

Daß es sich hierbei nicht etwa um eine besondere Eigentümlichkeit des durch einen Bacillenträgerstamm erzeugten Serums handelt, geht aus Versuch 7, Tabelle II hervor. Der Bacillenträgerstamm Berwanger wird durch das Serum der Trägerin ebenso kräftig beeinflusst, wie der Kontrollstamm Zemborsky. Auch die mit den Bacillenträgerstämmen Hör und Zemborsky erzeugten Kaninchensera beeinflussen den eigenen Stamm sehr intensiv (vergl. Versuch 4 und 5 der Tabelle VIII unter Bindungsversuchen am Schlusse der Arbeit).

Am empfindlichsten gegen die Serumwirkung ist der Stamm Frau Hör I (No. 16, Tabelle I), fast ebenso empfindlich ist Ohlig II (No. 4, Tabelle I). Mit diesen beiden Stämmen gelang es bei geeigneter Versuchsanordnung fast stets, in den wirksameren Serumverdünnungen sterile Platten zu erhalten. Am serumfestesten erwies sich Stamm Frau Kaufmann (No. 2, Tabelle I); er behielt seine Eigenschaft auch bei häufigem Umzüchten ein Jahr lang bei. Ähnlich wie Stamm Kaufmann verhielten sich die Stämme Merkle, Lydorf, Geppert, Misere (No. 7, 11, 13, 15, Tabelle I). Zwischen diesen beiden Extremen finden sich alle Uebergänge. In Tabelle VII sind die Stämme ihrer Serumempfindlichkeit nach geordnet. Je weiter nach der rechten Seite der Tabelle ein Stamm eingetragen ist, um so serumfester ist er.

gestellt; es sind daher in dieser Tabelle eine größere Anzahl Stämme nur einmal enthalten. Die Resultate der nicht veröffentlichten Versuche stimmen mit den veröffentlichten gut überein.

Tabelle VII.

Frau Hör I	Frau Schneider	Frau Zemborsky	Frau Boos	Helene Rieckelt II	Frau Kaufmann
Frl. Ohlig II	" Seherz	Herr Rheinstadler	Frl. Ohlig I	Willy Rausch	Frau Merkle
	" Quarz I	Frau Berwanger	Cath. Schmidt I	Herr König	" Misere
	Herr Wüst	" Rauber	" II	Maria Bruch	Frau Lydorf
	" Kappenrat	" Bastian	Frau Quarz II	Frau Krob	" Geppert
	Frau Fiak	" Hör II	Helene Rieckelt I	Adolf Müller	
	Joh. Speicher	Hcinrich Krack	Frl. Köhl	August Späth	
	Frau Krämer	Konrad Hör	Frau Thiery		
		Frau Staudt	Herr Bl.	Frau Wollscheid	
		" Beilstein	Frau Lemer Bl.	" Hertel	
		Jakob Beilstein			
		Franz Krämer	Oberle Bl.		
		Frieda Schmidt St.	Clara Killus St.		
		Oberle St.	Hör III A u. B		
		Clara Killus Bl.			
		Frieda Schmidt Bl.			

Die Bacillenträgerstämme sind fett gedruckt.

Nach dem Ausfall meiner Versuche klären sich manche Widersprüche auf, die in den Versuchen früherer Untersucher zutage traten. So erhielt Laubenheimer bei seinen bakteriziden Reagenzglasversuchen mit Typhusbacillen in den wirksameren Serumverdünnungen stets sterile Platten, was anderen Autoren nicht gelang (Töpfer und Jaffé). Es hat eben Laubenheimer mit einem Stamm vom Typus Hör, Töpfer und Jaffé mit einer etwas serumfesteren Kultur gearbeitet. Eine wichtige Forderung ergibt sich aus meinen Versuchsergebnissen für alle mit Typhusbacillen angestellten bakteriziden Versuche: Man darf zu derartigen Untersuchungen nur Stämme verwenden, deren Eigenschaften durch Vergleich mit einer Anzahl anderer Stämme ermittelt sind. Ganz unzulässig ist es, irgendeinen beliebigen frisch isolierten Typhusstamm zu vergleichen mit einer beliebigen alten Laboratoriumskultur und aus einem derartigen Versuch Schlüsse zu ziehen über die Einwirkung der Nährbodenpassage usw. auf Typhusbacillen. Würde z. B. als frisch isolierte Kultur „Hör I“, als Laboratoriumsstamm „Kaufmann“ verwendet, so würde man zu dem verkehrten Schluß kommen: Typhusbacillen werden durch Passage über künstliche Nährböden serumfest. Ganz besonders sollten zu allen Versuchen, die sich mit der Veränderung der Typhusbacillen im Tierkörper, in Serumkulturen usw. beschäftigen, nur Stämme verwendet werden, deren Verhalten gegen bakterizide Sera genau studiert ist. Für derartige Versuche ist es auch wichtig, zu wissen, wie der betreffende Stamm sich direkt nach seiner Isolierung aus dem menschlichen Körper verhalten hat. Aus den Untersuchungen von Cohn wissen wir, daß Typhusbacillen, die durch wiederholte Züchtung in aktivem Kaninchenserum serumfest geworden sind, diese Serumfestigkeit aber durch Weiterzüchtung in Bouillon teilweise eingebüßt haben, ihre alte Serumfestigkeit bereits durch einmalige Passage durch aktives Serum wieder gewinnen, während eine einmalige Serumpassage nicht ausreicht, um gewöhnliche Kulturbacillen serumfest zu machen. Es ist somit bei Versuchen, die auf künstliche Erhöhung der Serumfestigkeit eines Typhusstammes abzielen, durchaus nicht gleichgültig, ob der verwendete Stamm ursprünglich serumfest war und durch länges Fortzüchten auf künstlichen Nährboden seine Resistenz

eingebüßt hat, oder ob er von Anfang an serumempfindlich war. Manche widersprechende Beobachtungen, die sich in der Literatur finden, erklären sich vielleicht in der angedeuteten Weise.

Aus einem Vergleich des Verhaltens der einzelnen Stämme im bakteriziden Regenzglasversuch ergibt sich, daß Serumfestigkeit nicht etwa eine ganz neue Eigenschaft ist, die einzelne Stämme erworben haben, die aber anderen fehlt; eine relative Serumfestigkeit ist fast allen Stämmen eigentümlich, und wenn ein Stamm im Tierkörper gegen die bakteriziden Kräfte unempfindlich wird, so stellt das lediglich eine Steigerung schon vorhandener Eigenschaften dar. Vom Standpunkt der Phylogenie aus betrachtet, sehen wir hier vielleicht einen Entwicklungsprozeß vor uns, der bei den Choleravibrionen noch nicht eingesetzt hat — alle Cholerastämme sind durchaus serumempfindlich — und der bei den Paratyphusbacillen einen Abschluß erreicht hat — auch nach meinen, sich allerdings nur auf 6 Stämme erstreckenden Erfahrungen werden die Paratyphusbacillen, Typus B, im bakteriziden Regenzglasversuch nicht beeinflusst.

Ich will nun noch über eine Anzahl Einzelbeobachtungen berichten: Von einer Anzahl von Patienten wurde sowohl der aus Stuhl, als der aus Blut isolierte Stamm untersucht. Es ist nun von Interesse, festzustellen, ob die betreffenden Stämme sich verschieden verhalten. Von vornherein ist es ja wahrscheinlich, daß Blutstämme, die der Einwirkung des Serums am intensivsten ausgesetzt waren, serumfester sind, als die zugehörigen Stuhlstämme. Es kommen in Betracht die Stämme Frieda Schmidt (No. 40, 41, Tabelle I), Oberle (No. 43, 44, Tabelle I) und Clara Killus (No. 58, 59, Tabelle I).

In der Tat erwies sich bei Frieda Schmidt und Oberle der Blutstamm als serumfester als der Stuhlstamm (Versuch 5, 10, 11, Tabelle II), dagegen war bei Clara Killus der Stuhlstamm der serumfestere (Versuch 26, Tabelle II); eine Gesetzmäßigkeit besteht also hier nicht.

Es ist schon oft behauptet worden, daß frisch aus dem Tierkörper isolierte Bakterien sich im bakteriziden Versuch resistenter erweisen, als schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete. Diese Tatsache mußte sich in be-

sonders eleganter Weise demonstrieren lassen mit Bacillenträgerstämmen. Da manche Träger fast in jeder Stuhlprobe Typhusbacillen ausscheiden, so ist es mit Leichtigkeit möglich, einen ganz frisch isolierten Stamm zu vergleichen mit einem Laboratoriumsstamm, der vor beliebig langer Zeit von demselben Träger isoliert ist, man kann also gewissermaßen denselben Stamm zugleich in der Kultur und im menschlichen Körper fortzüchten. Um die frisch isolierten Stämme durch Nährbodenpassage möglichst wenig zu verändern, verfuhr ich bei den betreffenden Versuchen folgendermaßen. Mit dem Bacillenträgerstuhl wurden mehrere große Lackmus-Milchzuckerplatten beschickt. Mit einer gut isolierten verdächtigen Kolonie wurde ein Bouillonröhrchen beimpft und dieses nach 24-stündiger Bebrütung im bakteriziden Versuch verarbeitet. Wie man sich bei diesem Verfahren nachträglich davon überzeugt, daß die verwendete Kultur eine Typhuskultur und rein war, ist oben unter Technik genauer beschrieben.

Die für die in Rede stehenden Versuche in Betracht kommenden Stämme sind:

Ohlig I und II (No. 3, 4, Tabelle I),

Frau Hör I und II (No. 16, 17, Tabelle I),

Frau Quarz I, II, III (No. 24, 25, 26, Tabelle I),

Rickelt I und II (No. 27, 28, Tabelle I),

Katharine Schmidt I und II (No. 42, 12 Tabelle I).

Die mit I bezeichneten Stämme waren längere Zeit im Laboratorium fortgezüchtet, die übrigen frisch isoliert.

Stamm Quarz II war in der Tat serumfester als der Laboratoriumsstamm Quarz I (Versuch 28, Tabelle II). Ebenso verhielten sich Stamm Rickelt I und II (Versuch 17, Tabelle II). In diesem Versuche werden allerdings die Verhältnisse etwas verschleiert durch die erheblich größere Wachstumsgeschwindigkeit des Stammes I (vergl. Versuch 17, Tabelle III).

Die Stämme Katharine Schmidt I und II unterscheiden sich dagegen nicht voneinander. Die Beobachtung gewinnt dadurch an Interesse, daß die betreffende Person unter der Beobachtung der Anstalt zur Bacillenträgerin wurde. Der Stamm Katharine Schmidt I war beim Beginn der Erkrankung aus Stuhl isoliert, der Stamm Katharine Schmidt II etwa 4 Monate später, mehrere Monate nach der Entfieberung.

In diesem Falle war also die Serumempfindlichkeit des Stammes durch einen mehrmonatigen Aufenthalt im menschlichen Körper nicht verändert worden. Ferner hatten 2 Passagen über künstliche Nährböden genügt, um dem Stamme seine endgültigen Kultureigenschaften zu verleihen.

Recht überraschend waren mir die Beobachtungen, die ich bei Prüfung der Stämme Frau Hör I und II und Ohlig I und II machte. Der Stamm Frau Hör stammt von einer Bacillenträgerin. Diese wurde ermittelt bei der Umgebungsuntersuchung, die ausgeführt wurde gelegentlich der Typhuserkrankung des 16-jährigen Sohnes der Frau Hör (Konrad Hör, No. 45, Tabelle I). Da eine andere Infektionsquelle nicht zu ermitteln war, wurde angenommen, daß Konrad Hör sich an seiner Mutter infiziert habe. Der Vergleich der beiden Stämme ergab nun das überraschende Resultat, daß sie sich in bezug auf ihre Bakterizidierbarkeit ganz wesentlich unterschieden (Versuch 13, Tabelle II). Während Frau Hör I außerordentlich empfindlich war, hatte der Stamm Konrad Hör eine mittlere Empfindlichkeit. Auf Grund dieses Befundes war ich geneigt anzunehmen, daß die Infektionsquelle für Konrad Hör wo anders zu suchen sei. Mehrere Monate später isolierte ich aus dem Stuhl derselben Bacillenträgerin den Stamm Frau Hör II. Dieser erwies sich als erheblich serumfester als Stamm Hör I; er entsprach etwa der Resistenz des Stammes Zemborsky, der wiederum in seinen Eigenschaften mit Konrad Hör übereinstimmte. Stamm Frau Hör II behielt auch nach längerer Umzüchtung, wiederholter Passage über die Platte seine Eigenschaften unverändert bei. Zu einem noch späteren Zeitpunkte wurden aus ein und derselben Stuhlprobe der Frau Hör 6 Stämme isoliert (Frau Hör III A, B, C, D, E, F, No. 18—23 Tabelle I). Diese sämtlichen Stämme waren von mittlerer Serumfestigkeit (Versuch 21 und 23, Tabelle II), allerdings stimmten die Stämme nicht ganz genau miteinander überein, Stamm Hör III C war etwas empfindlicher als die 5 anderen Stämme.

Der Stamm Ohlig I besaß eine mittlere Serumempfindlichkeit (Versuch 2 und 19, Tab. II), der später aus dem Stuhl derselben Bacillenträgerin isolierte Stamm Ohlig II war dagegen ebenso serumempfindlich wie Frau Hör I (Versuch 19

und 23, Tab. II). Wir haben also hier die Tatsache, daß dieselbe Bacillenträgerin zu verschiedenen Zeiten Bacillen ausscheidet, die sich in ihrer Serumempfindlichkeit wesentlich unterscheiden.

Auf Grund epidemiologischer Beobachtungen ist schon wiederholt die Vermutung ausgesprochen worden, daß die Virulenz der von Bacillenträgern ausgeschiedenen Typhusbacillen zu verschiedenen Zeiten wechsele. Diese Vermutung gewinnt sehr an Wahrscheinlichkeit, da durch die vorliegenden Beobachtungen ein Wechsel in einer so wichtigen biologischen Eigenschaft, wie sie die Serumempfindlichkeit darstellt, experimentell bewiesen ist. Dabei soll die Frage, ob Serumempfindlichkeit und Virulenz direkt zusammenhängen, hier unerörtert bleiben.

Die zuletzt besprochenen Versuche wurden mehrfach wiederholt, immer mit dem gleichen Ergebnis. Ausdrücklich möchte ich hier unter Hinweis auf das unter Technik Gesagte betonen, daß es völlig ausgeschlossen ist, daß die Versuchsergebnisse etwa durch Verunreinigung der Kulturen vorgetäuscht wären.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die Serumresistenz eines Stammes überhaupt eine Eigenschaft ist, die einer gewissen Gesetzmäßigkeit unterliegt, oder ob sie sich unregelmäßig, sprunghaft ändert. Vergleicht man das Verhalten desselben Stammes in verschiedenen Versuchen, so findet sich nirgends ein Anhalt für die letztere Annahme. Wohl habe ich beobachtet, daß bei längerem Umzüchten ein Nachlassen der Serumfestigkeit eintrat (so war z. B. Stamm Lydorf im Anfange entschieden noch serumfester als in Versuch 16, Tab. II; die betreffenden Versuche sind in Tab. II nicht enthalten); meist blieb aber der nach den zur Reinzüchtung notwendigen Nährbodenpassagen erreichte Grad der Serumempfindlichkeit weiterhin unverändert. (Vergl. z. B. Stamm Zemborsky, der in 15 Versuchen als Vergleichsstamm verwendet ist.) Von Interesse ist es auch, das Verhalten eines Stammes innerhalb einer Kontaktkette zu verfolgen. Derartige Kontaktketten sind:

- 1) Frau Staudt—Oberle (No. 30, 43, 44, Tab. I).
- 2) Frau Krämer—Frau Schneider (No. 32, 38, Tab. I).

3) Herr Wüst—Frau Hertel (No. 33, 55, Tab. I).

4) Frau Beilstein—Jakob Beilstein (No. 35, 49, Tab. I).

5) Frieda Schmidt—Katharine Schmidt—Frl. Köhl (No. 40, 42, 46, Tab. I).

Die Stämme der Kontaktketten 1, 2, 4, 5 (Versuch 11, 14, 1—5, 16, Tab. II) stimmen in der Tat gut überein. Anders die Stämme Herr Wüst—Frau Hertel (Versuch 13 und 25, Tab. II). Der Stamm Wüst ist serumempfindlicher, der Stamm Hertel wesentlich serumfester als der Vergleichsstamm Zem-borsky. Nun ist der Stamm Wüst ein Bacillenträgerstamm; er wurde isoliert und geprüft mehrere Monate, ehe sich Frau Hertel an ihm infizierte. Sehr wahrscheinlich liegen hier analoge Verhältnisse vor, wie sie oben für die Kontaktkette Frau Hör—Konrad Hör dargelegt sind. Wir müßten also annehmen, daß der Bacillenträger Wüst einen resistenteren Stamm ausschied, als er Frau Hertel infizierte.

Theoretischer Teil.

Wir sahen, daß die Typhusbacillen im Tierkörper serumfest werden, daß die meisten Stämme durch Züchtung auf künstlichen Nährböden die Serumfestigkeit bis auf geringe Reste einbüßen, daß andere Stämme sich auch bei langer Fortzüchtung einen recht hohen Grad von Serumresistenz bewahren. Durch die Untersuchungen von Cohn wissen wir, daß man auch durch Züchtung in Serum einen beträchtlichen Grad von Serumfestigkeit bei Typhusbacillen erzeugen kann.

Auf welche Weise erwerben die Bakterien die Serumfestigkeit und wodurch verlieren sie sie wieder? Wie wir sehen werden, hängt die Beantwortung dieses Problems auf das engste zusammen mit der am Anfange der Arbeit gestellten Frage: hat die Bakteriolyse für den Ablauf der Typhuserkrankung eine Bedeutung oder nicht.

Cohn erörtert in seiner oben erwähnten Arbeit zwei Möglichkeiten für das Zustandekommen der Serumfestigkeit:

1) Die Bakterien sondern Stoffe ab, die die Immunkörper zerstören oder neutralisieren.

2) Die Bakterien werden so verändert, daß sie für die Immunkörper unangreifbar werden.

Die erste Annahme konnte Cohn direkt experimentell widerlegen. Ein Serum, in dem serumfeste Typhusbacillen gewachsen waren und das von diesen Bacillen durch Filtration befreit war, übte auf Kulturbacillen eine starke bakterizide Wirkung aus. Eine Zerstörung oder Neutralisierung der Immunkörper hatte also durch das Wachstum der serumfesten Bacillen nicht stattgefunden. Es muß demnach die zweite Annahme Cohns richtig sein: Die Bakterien selbst werden im Tierkörper so verändert, daß sie für die Serumstoffe unangreifbar werden.

Nach dem bisherigen Stand unserer Kenntnisse könnte das auf dreierlei Weise zustande kommen:

1) Die Bakterien umgeben sich im Tierkörper mit einer Art Schutzhülle, analog der Kapselbildung der Milzbrandbacillen (Ektoplasmatheorie Eisenbergs). Man müßte zur Erklärung dieses Vorganges annehmen, daß im Serum Stoffe vorhanden sind, die in unseren Nährböden fehlen und die zum Aufbau einer derartigen Schutzhülle notwendig sind. Diese Theorie wird für die Typhusbacillen widerlegt durch die Tatsache, daß einzelne Stämme ihre Serumfestigkeit lange Zeit auch in künstlichen Nährböden bewahren. Wären die Serumstoffe zum Aufbau eines Schutzmechanismus notwendig, so müßten ausnahmslos alle Typhusstämme auf künstlichen Nährböden serumempfindlich werden ¹⁾.

1) In seiner eingehenden Arbeit: „Neue Wege und Probleme der Immunitätslehre“ unterscheidet Eisenberg zwei verschiedene Anpassungsvorgänge: einmal die langsame Anpassung der Bakterien an den tierischen Körper im Laufe einer langdauernden Infektion, die durch eine Reihe von aufeinander folgenden Infektionen gefestigt wird — durch diesen Mechanismus würden die serumfesten Stämme entstehen — sodann eine Anpassung, die in wenigen Stunden vor sich geht — das Tierischwerden der Bacillen — und die sofort in künstlichen Nährböden wieder verschwindet. Diese zweite Art der Anpassung würde bedingt sein durch Veränderungen des Ektoplasmas. Meines Erachtens ist kein Grund dafür vorhanden, für denselben Endeffekt, die Serumfestigkeit der Bacillen, zwei verschiedene Ursachen anzunehmen. Es handelt sich nur um die Frage, warum behalten einzelne Stämme in der Kultur ihre Serumfestigkeit bei. Da gibt uns die Tatsache einen Fingerzeig, daß serumfeste Stämme am häufigsten bei Bacillenträgern gefunden werden. Ganz offenbar ist es der lange dauernde ununterbrochene Aufenthalt im menschlichen Körper ohne saprophytische Zwischenexistenz, der die sonst nur im Tierkörper bestehende Serumfestigkeit zu einer dauernden Eigenschaft des Stammes macht.

2) Die zweite Möglichkeit wäre die, daß die serumfesten Stämme mehr auf die bakteriolytischen Ambozeptoren passende Rezeptoren besitzen, als die serumempfindlichen. Es würden dann wenige Individuen alle Ambozeptoren an sich reißen, so daß für die übrigen Bacillen keine mehr zur Verfügung ständen.

Daraus würde folgen: Titriert man ein Immunserum zugleich gegen einen serumfesten und einen serumempfindlichen Stamm aus, so wird eine bestimmte Anzahl von Ambozeptoren auf den serumempfindlichen Stamm noch eine deutliche Wirkung ausüben, während sie dem serumfesten ambozeptorenbedürftigen Stamm gegenüber versagt; mit anderen Worten, bei der Auswertung gegen einen serumfesten Stamm wird der Titer des Serums niedriger erscheinen, als bei Auswertung gegen einen serumempfindlichen.

Eine Prüfung der in Tabelle II und III zusammengestellten Versuche ergibt, daß das nicht der Fall ist¹⁾. Der Unterschied der einzelnen Stämme tritt am deutlichsten in den wirksamsten Serumkonzentrationen zutage; je stärker die Verdünnung des Serums ist, um so mehr verwischen sich die Unterschiede zwischen serumfesten und serumempfindlichen Stämmen (vergl. Versuch 6, 7, 10, 13, 14, 16, Tab. III). In den Serumverdünnungen, in denen noch eine schwache Beeinflussung der serumempfindlichen Stämme stattfindet, werden auch serumfeste noch beeinflusst. Instrukтив für unsere Frage ist auch der folgende (in Tabelle II und III nicht enthaltene) Versuch. Er wurde angestellt mit dem Serum einer Typhuskranken, das am 10. Krankheitstage entnommen war, stark agglutinierte, sich aber im bakteriziden Versuch als sehr wenig wirksam erwies.

Tabelle VII.

Stamm	Aus- saat	Komple- ment- Kontrolle	$1/100$	$1/300$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	$1/6400$
Kaufmann	1953	58 800	17 400	29 700	32 700	44 100	39 300	57 600	49 500
Schneider	1776	71 500	—	27 600	47 100	72 900	63 600	108 900	—
Scherz	1978	97 200	20 100	19 800	33 000	49 800	75 300	70 800	108 000

1) Das gilt natürlich nur für den Reagenzglasversuch.

Hier ist der Unterschied zwischen dem serumfesten Stamm Kaufmann und den empfindlichen Stämmen Schneider und Scherz fast verschwunden. Die wenigen im Serum vorhandenen Ambozeptoren reichen wohl aus zur Vernichtung der wenigen im Stamm Kaufmann vorhandenen serumempfindlichen Individuen, aber nur zur Abtötung eines Teiles der der Bakteriolyse zugänglichen Individuen der Stämme Schneider und Scherz.

3) Das führt uns zur dritten Erklärungsmöglichkeit: In den meisten Typhuskulturen hat eine Anzahl von Individuen die auf die Ambozeptoren passenden Rezeptoren eingeblüht. Aus dem Verhältnis der rezeptorenhaltigen und -freien Bacillen derselben Kultur zueinander ergibt sich der Grad der Serumfestigkeit.

Gegen diese Auffassung erhebt sich ein Bedenken: Unsere Reinkulturen stammen ja von einem einzigen Bacillus ab; wir müßten also erwarten, daß sich in einer Kultur alle Bacillen gleich verhielten, also entweder alle rezeptorenhaltig oder alle rezeptorenfrei wären. Diese Schwierigkeit löst sich zwanglos durch Uebertragung der bei den höheren, sich geschlechtlich vermehrenden Pflanzen gefundenen Vererbungsgesetze auf die Bakterien. Zum Verständnis dieser Dinge muß ich kurz auf die Mendelsche Spaltungsregel eingehen:

Wenn man 2 Varietäten A und B einer Pflanze, die sich durch eine Eigenschaft a und b (z. B. Form der Blätter) voneinander unterscheiden, kreuzt, so entsteht in vielen Fällen ein Bastard, der nur die Eigenschaft des einen Elters (a) aufweist, während die Eigenschaft des anderen Elters (b) scheinbar verschwunden ist. Man sagt dann: die Eigenschaft a ist dominierend, die Eigenschaft b ist rezessiv geworden. Bringt man die Samen eines derartigen Bastards zur Entwicklung, so hat von den entstehenden Pflanzen $\frac{1}{4}$ die beim ersten Bastard rezessive Eigenschaft b, $\frac{3}{4}$ hat die Eigenschaft a. Alle Nachkommen der mit der Eigenschaft b behafteten Pflanzen haben nur die Eigenschaft b, gleichen also völlig wieder der Ausgangspflanze B. Von den $\frac{3}{4}$ aller Pflanzen, die mit der Eigenschaft a versehen waren, hat $\frac{1}{3}$ in seiner Nachkommenschaft immer nur die Eigenschaft a, gleicht also ganz der Ausgangspflanze A. Die übrig bleibenden $\frac{2}{3}$ (gleich $\frac{1}{2}$ aller entwickelten Pflanzen) spalten in ihrer Nachkommenschaft wieder derart, daß $\frac{1}{4}$ Varietät A, $\frac{1}{4}$ Varietät B, $\frac{2}{4}$ spaltende Bastards entstehen.

Dies eigentümliche Verhalten erklärt sich daraus, daß die rezessive Eigenschaft b im ursprünglichen Bastard zwar nicht ausgebildet, aber in der Anlage vorhanden war und daß die Anlage auch auf die Keimzellen übergeht. Es bekommen dann sowohl von männlichen wie weiblichen Keim-

zellen je die Hälfte die Anlage a, die andere Hälfte die Anlage b mit. Da immer a über b dominiert, so ergibt sich folgendes Schema:

$$\begin{array}{ccc} \underbrace{a m + a w} & \underbrace{a m + b w} & \underbrace{b m + a w} \\ \text{Varietät A} & \text{spaltender Bastard mit} & \text{Varietät B} \\ & \text{dominierender Eigen-} & \\ & \text{schaft a} & \end{array}$$

Wir sehen also, daß bestimmte Eigenschaften einer Pflanze entweder ausgebildet oder auch unausgebildet, äußerlich nicht erkennbar, nur als Anlage in der Pflanze vorhanden sein können, daß aber diese Anlage unter bestimmten äußeren Verhältnissen zur Entfaltung kommen kann und damit äußerlich wahrnehmbar in die Erscheinung tritt.

Es ist im höchsten Grade wahrscheinlich, daß bei den Bakterien die Verhältnisse ebenso liegen, wie bei den höheren Pflanzen.

Ich erinnere hier nur an das Bacterium coli mutabile. Ein Milchsucker nicht vergärendes Bakterium erwirbt diese Fähigkeit dadurch, daß es auf der Endoplatte wächst. In den ursprünglich farblosen Kolonien bilden sich nach einiger Zeit in der Mitte rote Knöpfchen; impft man von diesen ab, so wachsen alle aufgehenden Kolonien rot. Es hat also dieses Bakterium, dem die Kohlehydrat vergärenden Rezeptoren fehlen, diese Rezeptoren unter dem Zwange äußerer Verhältnisse erworben: in der Mitte der Kolonie sind die dem Bakterium als Nahrung dienenden Eiweißstoffe am frühesten verbraucht; ein weiteres Wachstum der in der Mitte der Kolonie befindlichen Bakterien kann nur dadurch stattfinden, daß die Kohlehydrate von den Bakterien assimiliert werden. Aber nur bei dem Bacterium coli mutabile gelingt dieser Versuch. Alle anderen und bekannten Bakterien, denen Milchsucker vergärende Rezeptoren fehlen, erwerben diese nie, mag man sie auch noch so oft auf der Endoplatte züchten. Es besteht also zwischen Bacterium coli mutabile und ähnlichen Bakterien ein grundsätzlicher Unterschied, und der besteht eben darin, daß das Bacterium coli mutabile bereits die Anlage zu Milchsuckerrezeptoren (sit venia verbo) besitzt; die Anlage kann sich entfalten und so als sinnfällige Eigenschaft in die Erscheinung treten, was naturgemäß bei allen Bakterien, denen eben die Anlage fehlt, unmöglich ist.

Kehren wir nach dieser Abschweifung zu den Typhusbacillen zurück: Alle Typhusbacillen haben als wesentliche Eigenschaft die Anlage, Rezeptoren zu bilden, die auf die bakteriolytischen Ambozeptoren passen. Bei einzelnen Stämmen werden die Rezeptoren auch regelmäßig ausgebildet (Stamm Frau Hör I, Ohlig II). In der Regel sind aber nur bei einer gewissen Anzahl von Individuen die Rezeptoren ausgebildet,

bei anderen ist nur die Anlage vorhanden. Schreitet ein derartiges Bakterium zur Teilung, so ist bei einem Tochterbakterium der ausgebildete Rezeptorenapparat, bei dem zweiten nur die entsprechende Anlage vorhanden. Werden nun, wie das im tierischen Körper meist der Fall sein dürfte, alle mit Rezeptoren ausgestatteten Keime sofort, gewissermaßen in statu nascendi vernichtet, gelangen somit nur die Keime zur Fortpflanzung, die lediglich die Anlage zur Rezeptorenbildung besitzen, so werden im Laufe der Zeit immer weniger Rezeptoren tragende Bakterien gebildet, mit anderen Worten, der Stamm wird immer serumfester. Von der Zeit und der Intensität dieser Auslese wird es abhängen, wie lange und in welchem Maße die Serumfestigkeit in der Kultur erhalten bleibt.

Den Ablauf des bakteriziden Reagenzglasversuches haben wir uns gleichfalls im Sinne einer Auslese vorzustellen. Von den eingesäten Bacillen werden die serumempfindlichen in kurzer Zeit abgetötet, die überlebenden serumfesten vermehren sich und bringen sowohl serumfeste wie serumempfindliche Individuen hervor; die letzteren werden wieder abgetötet u. s. f. Laubenheimer gibt in seiner mehrfach erwähnten Arbeit an, daß die Abtötung der Bacillen im Reagenzglasversuch in $\frac{1}{2}$ Stunde beendet sei; nach dieser Zeit erwiesen sich die Röhrchen, die die wirksamen Serumverdünnungen enthielten, als steril. Töpfer und Jaffé fanden dagegen bei ihren Versuchen in den wirksamsten Serumverdünnungen nach dreistündigem Aufenthalt der Röhrchen im Brutschrank noch mehrere hundert Keime vor, die Röhrchen waren aber bei nochmaliger Prüfung nach 24 Stunden steril geworden. Dieser Widerspruch erklärt sich dadurch, daß Laubenheimer bei seinen Versuchen einen Typhusstamm verwendete, der nur rezeptorenhaltige Individuen enthielt. Es wurden daher im bakteriziden Versuch sofort alle Bacillen gleichzeitig abgetötet. Bei Anwendung etwas weniger serumempfindlicher Stämme tritt die oben geschilderte schrittweise Keimverminderung ein. Nur so läßt sich eine so verzögerte Abtötung der Bacillen erklären, wie sie Töpfer und Jaffé beschreiben.

Bereits an einer früheren Stelle der Arbeit ist die merkwürdige Tatsache erwähnt, daß ein Bacillenträgerstamm (Kaufmann) sowohl im Körper der Trägerin als auch im Tierkörper

ein Serum erzeugte, das gegen serumempfindliche Stämme sehr wirksam war, den eigenen Stamm aber nur wenig beeinflusste. Diese Tatsache findet nach dem Vorstehenden eine zwanglose Erklärung. Eine gewisse Anzahl von Individuen erliegen ja auch bei dem serumfesten Stamm der Serumwirkung, haben also Rezeptoren. Durch die Untersuchungen von Friedberger und Moreschi wissen wir, daß in vielen Fällen bereits sehr kleine Dosen Antigen genügen, um eine kräftige Antikörperbildung auszulösen. Bei den zur Immunisierung von Tieren üblichen Dosen (ich spritzte eine bis mehrere abgetötete Kulturen in die Bauchhöhle) wird also auch ein verhältnismäßig serumfester Stamm, der nur wenige rezeptorentragende Individuen besitzt, immer noch die zur Antikörperbildung nötige Rezeptorendosis enthalten. Dieselben hier mitgeteilten Beobachtungen hat schon Friedberger gemacht. Auf die Deutung, die Friedberger seinen Versuchen gibt, wird bei Besprechung der Bindungsversuche einzugehen sein.

Wir sahen oben, daß die Stämme einer Kontaktkette in der Regel hinsichtlich ihrer Serumempfindlichkeit übereinstimmen. Wird nun ein Gesunder mit einem serumfesten Bacillenträgerstamm infiziert, so wird er gleichfalls während seiner Krankheit einen serumfesten Stamm ausscheiden. Damit erledigt sich auch die von anderer Seite aufgeworfene Frage, ob ein bei einem Kranken gefundener serumfester Stamm (z. B. der von Friedberger beschriebene Stamm Sprung) als Erreger dieser Krankheit angesehen werden dürfe, ob der Stamm nicht vielmehr als Bacillenträgerstamm zu betrachten sei.

Vielleicht mag es befremdlich erscheinen, daß auch eine jahrelang fortwirkende Auslese in vielen Fällen die Serumfestigkeit des Serums so wenig befestigt, daß er bereits nach wenigen Passagen über Nährböden wieder serumempfindlich ist. Kommen lange Zeit im Tierkörper immer nur die serumfesten Individuen zur Fortpflanzung, so müßte sich doch die Serumresistenz in der Kultur durchgehends länger erhalten, sie müßte allmählicher abklingen. Gerade die Schnelligkeit, mit der der Kulturzustand des Stammes wieder erreicht wird, hat offenbar die Ansicht erzeugt, die Serumfestigkeit im Tierkörper sei gebunden an die ununterbrochene Einwirkung bestimmter Serumstoffe und sie müsse dementsprechend sofort

aufhören, wenn die Bacillen nicht mehr der Serumwirkung ausgesetzt sind. Der Vorgang erscheint uns verständlich nach folgender Erwägung:

Nehmen wir an, daß ein Typhusbacillus sich in 20 Minuten einmal teilt, daß ferner das Wachstum in der Kultur nach 20 Stunden beendet ist, so hat der Bacillus in dieser Zeit 60 Generationen hervorgebracht (der allgemein gebräuchliche Ausdruck Generation = einmalige Nährbodenpassage, ist logisch nicht ganz richtig). Die von mir untersuchten Stämme hatten durchschnittlich 7—8 Passagen über künstliche Nährböden durchgemacht, zur Untersuchung gelangte also etwa die 450. Generation nach Isolierung der Bacillen aus dem menschlichen Körper. Eine Pflanze, die zur Reifung einen Sommer braucht, benötigt zur Hervorbringung so vieler Generationen fast ein halbes Jahrtausend. Berücksichtigt man diese Verhältnisse, so verlieren die an Bakterien beobachteten Veränderungen vollkommen die Ausnahmestellung, die ihnen vielfach im Laufe des Naturgeschehens zugewiesen wird. Es liegt gar kein Grund vor, „eine ganz ungewöhnliche Anpassungsfähigkeit dieser Lebewesen, eine Plastizität des Protoplasmas, die in der ganzen Lebewelt ihresgleichen sucht“, anzunehmen (Eisenberg). Der Unterschied in dem Verhalten der Bakterien im Gegensatz zu den höheren Lebewesen wird uns nur vorgetäuscht durch die ungeheure Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien.

Man hat vielfach die Verhältnisse bei den Bakterien herangezogen als einen Beweis für die Vererbung erworbener Eigenschaften. Nach den obigen Ausführungen ist das für das Serumfestwerden der Typhusbacillen nicht berechtigt. Die Serumfestigkeit ist nicht eine erworbene Eigenschaft im eigentlichen Sinne; sie ist nur eine Steigerung einer bereits vorhandenen.

Das Serumfestwerden der Bacillen läßt sich erklären allein durch das Prinzip der Auslese. Und in der Tat finden wir wohl kaum irgendwo die Bedingungen für die Auslese so rein und so vollständig wirkend vor, wie im tierischen Organismus.

Nach den hier vorgetragenen Anschauungen beantwortet sich auch die am Eingange der Arbeit aufgeworfene Frage nach der Bedeutung der humoralen Bakteriolyse für den Ablauf der Infektion beim Typhus. Bekanntlich leugnet Bail,

daß die Bakteriolyse irgendwelche Bedeutung für den Ablauf der natürlichen Infektion habe. Eine Hauptstütze für diese Auffassung erblickt Bail darin, daß aus dem Peritonealexsudat eines infizierten Meerschweinchens gewonnene Typhusbacillen der Bakteriolyse unzugänglich sind.

Wenn nun ein Meerschweinchen mit Typhusbacillen intraperitoneal infiziert wird, so werden natürlich die der Bakteriolyse zugänglichen Keime aufgelöst, bei der Vermehrung der bakteriolysefesten werden wiederum alle sich neu bildenden bakteriolyseempfindlichen Keime abgetötet, solange der Organismus noch über bakteriolytische Schutzstoffe verfügt, so daß die zu einem bestimmten Zeitpunkte aus dem Exsudat gewonnenen Bakterien zum größten Teil bakteriolysefest sind. Es ist aber nicht zulässig, aus dieser Tatsache zu folgern, daß nun im Körper überhaupt keine der Bakteriolyse zugänglichen Keime mehr gebildet werden. Es fallen nur alle sich neu bildenden bakteriolyseempfindlichen Keime sofort der Vernichtung anheim.

Nach dieser Auffassung stellt die humorale Bakterizidie eine für den Körper sehr ökonomische Einrichtung dar; es ist ja klar, daß sie eine geringere Arbeitsleistung für den Körper bedeutet, als die Phagocytose. Wenn also auch die Bakteriolyse allein nicht imstande ist, alle in den Körper eingedrungenen Keime zu vernichten, so schränkt sie doch die Zahl der im Blute kreisenden Keime wesentlich ein. Und so allein ist es auch erklärlich, daß die Zahl der im Blute nachweisbaren Typhusbacillen immer ziemlich niedrig bleibt.

Der oben entwickelten Ansicht, daß das Tierischwerden der Bacillen lediglich durch Auslese bewirkt werde, widersprechen die Resultate, die Tsuda erhielt bei seinen Versuchen, durch Züchtung im Serum tierische Typhusbacillen zu erzielen. Diese Versuche gelangen nicht nur bei Züchtung der Bacillen im aktiven Serum, sondern auch im inaktivierten Serum und im Serum, das mit abgetöteten Bacillen abgesättigt war. Tsuda folgert daraus, daß das Tierischwerden der Bacillen weder durch den Ambozeptor noch durch das Komplement verursacht werde. Tsuda teilt 5 Tierversuche mit, in denen je ein Meerschweinchen mit aus Serumkultur gewonnenen Bacillen und eins mit Agarkulturbacillen geimpft wurde; beide Tiere

erhielten die gleiche Dosis Immunserum. In einem Versuche starben beide Tiere, in einem zweiten überlebten beide, in den 3 übrigen Versuchen starb das mit Serumbacillen behandelte Tier, während das mit Agarbacillen geimpfte überlebte. Auffallend ist nun, daß in den beiden Fällen, in denen ein Unterschied in der Wirkung der beiden Bacillenarten nicht hervortrat, das zum Züchten der Serumbacillen verwendete Serum bei 58° inaktiviert war, während bei 2 erfolgreichen Versuchen das zur Züchtung benutzte Serum bei 56° vorbehandelt war. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Inaktivierung bei 56° nicht eine so vollständige war, wie bei 58°. Was nun die Züchtung der Bacillen in Serum betrifft, das mit abgetöteten Bacillen abgesättigt ist, so gelingt es nach meinen Erfahrungen fast nie, durch einmalige Einsaat von Bacillen alle Antikörper aus einem Serum zu entfernen. Die Wirksamkeit eines derart vorbehandelten Serums ist meist noch eine recht beträchtliche.

Die bakteriziden Reagenzglasversuche Tsudas stehen im direkten Widerspruche zu den sehr ausgedehnten Versuchen Cohns. Dieser Autor konnte auch durch häufig wiederholte Vorzüchtung in inaktivem Serum nie eine Serumresistenz erzielen; ja der erzielte Grad von Serumfestigkeit war direkt proportional der Wirksamkeit des zur Vorzüchtung verwendeten Serums. Es bedürfen also die Untersuchungen Tsudas noch der Nachprüfung; vorläufig können sie als ein Beweis gegen meine oben angeführten Anschauungen nicht gelten.

Zum Schluß will ich noch auf die Ergebnisse einiger Bindungsversuche eingehen, die in Tabelle VIII zusammengestellt sind. Bevor ich an eine Besprechung der Versuchsergebnisse gehe, muß ich auseinandersetzen, inwieweit wir von Bindungsversuchen einen Aufschluß über den Bau des Rezeptorenapparates der Typhusbacillen erwarten können.

Aus den grundlegenden Untersuchungen von Meinicke, Jaffé und Flemming über die Bindungsverhältnisse der Choleravibrionen wissen wir, daß zwei Cholerakulturen, die von demselben Immunserum gleich stark agglutiniert werden, sich hinsichtlich ihrer Bindungsfähigkeit diesem Serum gegenüber sehr different verhalten können. Es werden z. B. zwei Cholerastämme A und B von einem Serum bis zur Verdünnung von $\frac{1}{5000}$ agglutiniert. Sättigt man nun eine Serumprobe mit

Stamm A, eine zweite mit Stamm B ab, so agglutiniert jede abgesättigte Probe den eigenen Stamm nur noch bis zur Verdünnung $1/_{50}$. Wertet man nun die abgesättigten Sera kreuzweise aus, derart, daß das mit A abgesättigte Serum gegen B, das mit B abgesättigte gegen A ausgewertet wird, so werden beide Stämme fast noch bis zur Titergrenze agglutiniert. Mit anderen Worten, jeder Stamm entzieht dem Serum fast alles Agglutinin für sich, nicht aber für den anderen Stamm. Analoge Verhältnisse ergaben sich bei Auswertung der Sera im bakteriziden Versuch. Die genannten Autoren kommen auf Grund eines sehr umfangreichen experimentellen Materials und auf Grund theoretischer Erwägungen zu dem Schluß, daß die Choleravibrionen eine große Anzahl differenter Rezeptoren besitzen, die bei allen Stämmen gleich sind, daß aber von diesen Rezeptoren ein Teil eine hohe, ein anderer Teil eine geringe Avidität zu den Agglutininen besitzt. In unserem Beispiel würden also bei Stamm A nur die eine Hälfte der Rezeptoren hohe Avidität haben, bei Stamm B dagegen die andere Hälfte.

Wir müssen erwarten, daß die Verhältnisse bei den Typhusbacillen analog liegen. Sättigen wir also von einem Serum eine Probe mit Stamm M ab, eine zweite mit Stamm N und werten beide Proben gegen beide Stämme aus, so wird das M-abgesättigte Serum den Stamm N stärker beeinflussen, das N-abgesättigte dagegen den Stamm M, da jeder Stamm aus dem Serum mehr Lysin für sich selbst bindet, als für den anderen Stamm.

Nun werden aber bei den Typhusbacillen die Verhältnisse noch weiter kompliziert. Die Choleravibrionen haben einen außerordentlich gleichmäßigen Rezeptorenapparat; alle echten Cholerastämme werden von demselben Serum fast gleich stark beeinflußt. Wie wir sahen, ist das bei den Typhusbacillen keineswegs der Fall. Ich hatte zur Erklärung dieser Tatsache angenommen, daß in den meisten Typhuskulturen eine gewisse Anzahl von Individuen keine auf die bakteriziden Ambozeptoren passenden Rezeptoren hätte. Sättigt man also eine Serumprobe mit einem serumfesten Stamm, eine zweite mit einem serumempfindlichen ab, so mußte unter allen Umständen der serumempfindliche Stamm mehr Lysin binden, als der serum-

festen; das mit dem serumempfindlichen Stamme vorbehandelte Serum muß sowohl gegen den empfindlichen als auch gegen den serumfesten Stamm weniger wirksam geworden sein; denn in dem serumfesten Stamm ist ja überhaupt nur eine beschränkte Zahl von Individuen imstande, Lysin zu binden.

Wenn wir also ein Serum einmal mit einem serumfesten und ein zweites Mal mit einem serumempfindlichen Stamm absättigen und beide Sera gegen den serumfesten Stamm auswerten, so müssen wir auf der einen Seite nach den an Choleravibrionen gewonnenen Erfahrungen erwarten, daß der serumfeste Stamm für sich selbst mehr Lysin aus dem Serum herausnimmt als der empfindliche, auf der anderen Seite müssen wir genau das umgekehrte Resultat erwarten, denn die Gesamtsumme der Rezeptoren müßte ja bei dem serumfesten Stamm wesentlich kleiner sein als bei dem serumempfindlichen.

Nach diesen Erwägungen ist es klar, daß ich durch Aenderung der quantitativen Verhältnisse unter Umständen einander ganz entgegengesetzte Versuchsergebnisse erhalten kann.

Das ist der Fall in Versuch 1 und 2 der Tabelle VIII. In beiden Fällen ist das Kaninchenserum Kaufmann einmal mit Stamm Kaufmann (serumfest), das andere Mal mit Stamm Hör (serumempfindlich) abgesättigt und gegen Stamm Kaufmann ausgewertet; zur Kontrolle ist in beiden Versuchen noch eine nicht abgesättigte Serumprobe mit verarbeitet.

In Versuch 1 hat Stamm Kaufmann mehr Kaufmannlysin gebunden als Stamm Hör; die mit Hör abgesättigte Serumprobe ist noch wirksamer, als die mit Kaufmann abgesättigte. Umgekehrt liegen die Dinge in Versuch 2; hier ist die mit Kaufmann abgesättigte Serumprobe die wirksamere, oder mit anderen Worten: Hör hat mehr Kaufmannlysin gebunden, als Kaufmann selbst.

Dieser Widerspruch erklärt sich einfach aus den quantitativen Verhältnissen. In Versuch 1 war zum Absättigen von 0,25 ccm Serum $\frac{1}{2}$ Kultur verwendet, in Versuch 2 dagegen nur $\frac{1}{10}$ Kultur. Sättigte ich das Serum mit einer geringen Bacillenmenge ab, so kann der serumfeste Stamm Kaufmann nur einen Teil seines Lysins binden, da nicht genügend Rezeptoren tragende Bacillen in ihm vorhanden sind; der serum-

empfindliche Stamm Hör, bei dem alle Bacillen Rezeptoren besitzen, kann dagegen den Teil Kaufmannlysin vollständig binden, zu dem seine Rezeptoren Avidität besitzen.

Sättige ich dagegen mit einer großen Bacillenmenge ab, so hat nunmehr der Stamm Kaufmann eine genügende Anzahl Rezeptoren tragender Individuen, um seinen ganzen Lysinanteil zu binden, dagegen kann Stamm Hör nur einen Teil Kaufmannlysin binden, die seine Rezeptoren zu dem anderen Teil Kaufmannlysin keine Avidität haben.

Ein Schema kann diese etwas verwickelten Verhältnisse am einfachsten darstellen.

Ich bezeichne die Rezeptoren der Typhusbacillen mit a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n. Die mit hoher Avidität ausgerüsteten werden fettgedruckt, und zwar seien es für Kaufmann die Rezeptoren a—k, für Hör f—n, so daß die Rezeptoren f—k bei beiden Stämmen hohe Avidität haben. Die den Rezeptoren entsprechenden Ambozeptoren des Serums werden durch die entsprechenden großen lateinischen Buchstaben (A—N) bezeichnet; die keine Rezeptoren tragenden Bacillen werden durch eine Anzahl Nullen angedeutet. Dabei ist angenommen, daß bei Stamm Kaufmann auf ein Rezeptoren tragendes Individuum 3 rezeptorenfreie kommen.

Fall I. Absättigung des Serums mit einer kleinen Bacillenmenge:

4 Teile Serum =
$$\begin{array}{cccccccccccccccc} 4 \times & A & B & C & D & E & F & G & H & I & K & L & M & N \\ + 4 \text{ Teile Stamm Kaufmann} & \left\{ \begin{array}{cccccccccccccccc} 1 \times & a & b & c & d & e & f & g & h & i & k & l & m & n \\ + 3 \times & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{array} \right. \\ \text{Es bleiben ungebunden} & \begin{array}{cccccccccccccccc} 3 \times & A & B & C & D & E & F & G & H & I & K & L & M & N \\ + 1 \times & & & & & & & & & & & & L & M & N \end{array} \end{array}$$

mithin 30 Ambozeptoren für Stamm Kaufmann.

Tabelle VIII.

1) Kaninchenserum Kaufmann, ausgewertet gegen Stamm Kaufmann, nach Absättigung von 0,25 ccm Serum mit $\frac{1}{2}$ Kultur:

- I. von Stamm Kaufmann,
- II. von Stamm Hör,
- III. nicht abgesättigt.

Komplement 0,033.

	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$
I. abgesättigt Kaufmann	188 000	162 600	135 000	122 400	159 000
II. abgesättigt Hör	113 400	122 400	106 200	132 000	134 400
III. nicht abgesättigt	76 200	65 400	88 200	105 600	81 000

	$\frac{1}{1800}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	$\frac{1}{51200}$
I. abgesättigt Kaufmann	178 800	217 200	195 000	256 800	226 200	262 300
II. abgesättigt Hör	135 000	135 000	132 000	163 200	184 800	147 600
III. nicht abgesättigt	102 000	108 600	141 600	156 600	154 200	156 600
Einsaat: 4158. Komplementkontrolle: 190 200.						

2) Versuchsanordnung wie Versuch 1, nur wurde zur Absättigung von 0,25 ccm Serum $\frac{1}{10}$ Kultur verwendet. Komplement 0,05.

	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	$\frac{1}{51200}$	$\frac{1}{102400}$
I. abgesättigt Kaufmann	48 300	48 300	49 800	53 400	56 700	49 500	63 600	50 100	72 600	68 400	85 200	66 600
II. abgesättigt Hör	53 100	59 700	66 600	64 500	59 400	56 700	54 900	61 800	54 000	46 800	57 600	64 800
III. nicht abgesättigt	24 300	36 600	32 100	37 500	46 400	26 400	40 800	49 200	43 200	44 100	37 200	44 400
Aussaat: 3276. Komplementkontrolle: 44 700.												

Anmerkung: Beim Plattengießen wurden die dieselbe Serumverdünnung enthaltenden Röhren direkt nacheinander ausgegossen. Die einzelnen Keimzahlen sind daher direkt vergleichbar.

3) Kaninchen Serum Kaufmann, ausgewertet gegen Stamm Hör nach Absättigung von 0,25 ccm Serum mit $\frac{1}{10}$ Kultur:

- I. Stamm Kaufmann,
- II. Stamm Hör,
- III. nicht abgesättigt.

Komplement 0,04.

	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	$\frac{1}{51200}$	$\frac{1}{102400}$
I. abgesättigt St. Kaufm.	0	2	0	6	150	1060	4 158	5 796	9 600	15 900	19 500	16 200
II. abgesättigt St. Hör	0	0	5	62	334	2268	14 700	14 100	15 900	18 000	19 500	26 700
III. nicht abgesättigt	0	0	0	0	0	4	1	568	3 213	10 800	16 800	19 500
Aussaat: 2142. Komplementkontrolle: 31 200.												

4) Kaninchen Serum Hör, ausgewertet gegen Stamm Hör nach Absättigung von 0,25 ccm Serum mit $\frac{1}{10}$ Kultur von

- I. Stamm Kaufmann,
- II. Stamm Hör,
- III. nicht abgesättigt.

Komplement 0,025.

	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	$\frac{1}{51200}$	$\frac{1}{102400}$
I. abgesättigt St. Kaufm.	61	7	18	440	560	4 158	5 355	6 615	13 500	24 000	28 200	52 500
II. abgesättigt St. Hör	328	26	372	1701	5400	10 800	33 900	11 700	10 500	27 600	59 400	52 200
III. nicht abgesättigt	680	404	66	38	15	0	3	50	1 449	3 528	17 700	20 400
Aussaat: 2079. Komplementkontrolle: 56 400.												

5) Kaninchenserum Zemborsky, ausgewertet gegen Stamm Zemborsky nach Absättigung von 0,25 ccm Serum mit $\frac{1}{6}$ Kultur:

- I. Stamm Zemborsky,
II. Stamm Hör,
III. nicht abgesättigt.

Komplement 0,06.

	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1600}$	$\frac{1}{3200}$	$\frac{1}{6400}$	$\frac{1}{12800}$	$\frac{1}{25600}$	$\frac{1}{51200}$	$\frac{1}{102400}$
I. abgesättigt St. Zemb.	2 835	3654	4410	5481	13 800	15 900	12 600	18 900	25 800	21 300	31 500	31 800
II. abgesättigt St. Hör	1 953	1260	2016	4662	7 686	6 600	20 700	18 900	21 600	18 900	24 300	16 500
III. nicht abgesättigt	12 000	6300	1890	1134	1 197	2 772	7 200	12 600	24 900	24 000	27 000	34 500

Aussaat: 2709. Komplementkontrolle: 26 400.

4 Teile Serum $4 \times$ A B C D E F G H I K L M N
+ 4 Teile Stamm Hör + $4 \times$ a b c d e f g h i k l m n

Es bleiben ungebunden $4 \times$ A B C D E, mithin 20 Ambozeptoren für Kaufmann.

Es hat also Stamm Hör mehr Kaufmannlysin gebunden, als Kaufmann selbst.

Fall II. Absättigung derselben Serummengende mit der vierfachen Bacillenmenge.

4 Teile Serum $4 \times$ A B C D E F G H I K L M N
+ 16 Teile Stamm Kaufmann $\left\{ \begin{array}{l} 4 \times \\ + 12 \times \end{array} \right.$ a b c d e f g h i k l m n
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Es bleibt ungebunden $4 \times$ L M N, oder alles Kaufmannlysin ist gebunden.

4 Teile Serum $4 \times$ A B C D E F G H I K L M N
+ 16 Teile Stamm Hör + $16 \times$ a b c d e f g h i k l m n

Es bleibt ungebunden $4 \times$ A B C D E, mithin 20 Ambozeptoren für Kaufmann; es hat also Kaufmann mehr Kaufmannlysin gebunden als Hör.

Der Ausfall der Bindungsversuche steht also mit der von mir gemachten Annahme, daß in serumfesten Kulturen eine Anzahl Individuen keine Rezeptoren hat, in guter Uebereinstimmung.

Es geht aber auch aus den Versuchsergebnissen hervor, wie kompliziert die Dinge bei Absättigungsversuchen mit serumfesten Stämmen liegen, daß aus dem Ausfall solcher Versuche nur unter genauer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse Schlüsse gezogen werden können, daß es

namentlich von großer Bedeutung ist, ob man zur Absättigung große oder kleine Bacillenmengen verwendet.

Die übrigen Absättigungsversuche bieten nichts Besonderes: Stamm Hör nimmt sowohl aus Serum Kaufmann wie aus Serum Hör mehr Lysin für sich selbst heraus als Stamm Kaufmann, und zwar tritt dieser Unterschied mehr hervor bei Absättigung des Serums Hör als des Serums Kaufmann (Versuch 3 u. 4, Tab. VIII). Stamm Zemborsky nimmt aus Serum Zemborsky mehr Lysin für sich selbst heraus, als Stamm Hör. Beide Ergebnisse waren von vornherein zu erwarten.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen stimmen im wesentlichen überein mit den Versuchsergebnissen von Friedberger und Moreschi, nur sind die Gegensätze zwischen serumfestem und serumempfindlichem Stamm bei ihnen etwas schroffer; das erklärt sich daraus, daß die genannten Autoren ihre Stämme im Tierversuch prüften. Der Tierversuch gibt aber verhältnismäßig grobe Ausschläge; geringe Beeinflussungen eines serumfesten Stammes, wie sie in meinen Reagenzglasversuchen überall zu beobachten sind, entgehen naturgemäß der Beobachtung, da sie am Endeffekt, dem Tode des Tieres, nichts zu ändern vermögen. Zudem werden die Verhältnisse im Tierversuch noch dadurch kompliziert, daß sein Ausfall durch die Wirksamkeit sowohl der bakteriziden wie der bakteriotropen Serumstoffe bedingt ist. Es spricht sogar manches dafür, daß bei Vernichtung der serumfesten Stämme die bakteriotropen Substanzen eine größere Rolle spielen, als bei Abtötung der serumempfindlichen.

Die Versuchsergebnisse Friedbergers und Moreschis lassen sich etwa dahin zusammenfassen: Ein serumfester Stamm erzeugt im Tierkörper ein Serum, durch das er selbst wenig, durch das aber ein serumempfindlicher Stamm stark beeinflusst wird. Das durch einen serumempfindlichen Stamm erzeugte Serum wirkt gleichfalls stärker auf den empfindlichen, als auf den serumfesten ein.

Im Bindungsversuch absorbiert der serumfeste Stamm aus dem eigenen Serum wenig Lysin, und zwar sowohl von dem für den empfindlichen als von dem für den serumfesten

Stamm passenden. Aus dem mit dem serumempfindlichen Stamm hergestellten Serum nimmt der serumfeste Stamm etwas Lysin für sich selbst, gar keins für den empfindlichen heraus.

Aus der Tatsache, daß der serumfeste Stamm kein Lysin für den serumempfindlichen aus dem heterologen Serum bindet, daß er aber gleichwohl Lysin für den empfindlichen Stamm bildet, ziehen Friedberger und Moreschi den Schluß, daß die bindenden Rezeptoren mit den bildenden nicht identisch sind. Diese Schlußfolgerungen haben als Beweis gegen die Richtigkeit der Ehrlichschen Theorie eine Rolle gespielt. Ich glaube, daß sich die Tatsachen zwangloser in der oben ange-deuteten Art erklären lassen. Der Einfluß der quantitativen Verhältnisse auf den Ausfall des Bindungsversuches, wie er in Versuch 1 und 2 Tab. VIII hervortritt, läßt sich durch die Hypothese von Friedberger und Moreschi nicht erklären.

Zusammenfassung.

1) Typhusstämmen verschiedener Herkunft verhalten sich sehr verschieden gegen die Wirkung des bakteriziden Serums, derart, daß einzelne Stämme sehr empfindlich, andere fast unempfindlich sind; zwischen beiden Extremen bestehen alle Zwischenstufen.

2) Die Serumempfindlichkeit eines Stammes ist eine Eigenschaft, die sich in der Kultur nicht sprunghaft, sondern nur ganz allmählich ändert. Auch innerhalb einer Kontaktkette bleibt der Grad der Serumfestigkeit eines Stammes in der Regel unverändert.

3) Bacillenträger scheiden bisweilen zu verschiedenen Zeiten Bacillen aus, die in bezug auf Bakterizidierbarkeit wesentlich voneinander abweichen.

4) Serumfeste Stämme können sowohl im menschlichen wie im tierischen Organismus sehr wirksame Sera erzeugen; derartige Sera aber wirken nur wenig auf den homologen Stamm, dagegen sehr kräftig auf alle serumempfindlichen Stämme.

5) Die Serumfestigkeit eines Stammes ist dadurch bedingt, daß eine gewisse Zahl von Individuen keine auf die bakteriziden Ambozeptoren passenden Rezeptoren hat. Das Serumfestwerden der Typhusbacillen im Tierkörper ist verursacht durch Auslese.

6) Die Bakteriolyse ist zwar nicht imstande, im Laufe des Typhus alle im Körper vorhandenen Typhuskeime abzutöten, sie schränkt aber ihre Zahl wesentlich ein und stellt daher eine für den Organismus sehr nützliche Einrichtung dar.

Literatur.

- 1) Bang und Forssmann, Münch. med. Wochenschr., 1909, p. 1769.
- 2) Bail und Rubritius, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 43, Heft 7.
- 3) Besserer und Jaffé, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 51.
- 4) Cohn, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, p. 63.
- 5) Conradi, Centralbl. f. Bakt., Referate, 1906, Beilage, p. 55.
- 6) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, p. 44.
- 7) Eppstein und Korte, Münch. med. Wochenschr., 1906, p. 1149.
- 8) Friedberger und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 45.
- 9) — — Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 39, Heft 4.
- 10) Laubenheimer, Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 56, Heft 1 u. 2.
- 11) Lemierre, Münch. med. Wochenschr., 1906, p. 1573.
- 12) Hüne, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 26, p. 196.
- 13) Meinicke, Jaffé und Flemming, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, p. 416.
- 14) Neufeld und Hüne, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 25, Heft 1.
- 15) Töpfer und Jaffé, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, p. 392.
- 16) Tsuda, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 48, p. 277.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Beiträge zur hämolytischen Wirkung der Lipoide.

Von Dr. **Pietro Rondoni** (Florenz).

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. Februar 1911.)

Seitdem Korschun und Morgenroth gezeigt haben, daß die hämolytisch wirkenden Stoffe der Organextrakte alkohollöslich sind, ist deren Kenntnis durch zahlreiche Studien erweitert und vertieft worden. Es wird gegenwärtig wohl fast allgemein angenommen, daß als wirksames Prinzip hierbei vornehmlich die Seifen in Betracht kommen¹⁾, wenn man auch, wenigstens bei den alkoholischen Extrakten des Pankreas, die Interferenz von Hämolysinen, welche den aus dem Zusammenwirken von Cobragift und Lecithin entstehenden Reaktionsprodukten entsprechen, wird berücksichtigen müssen [cf. hierzu Friedemann²⁾].

Durch die Rolle, welche die Organextrakte bei der Wassermannschen Reaktion spielen, hat die Kenntnis ihrer Eigenschaften eine erhöhte theoretische und praktische Bedeutung gefunden. Nachdem besonders die Alkohollöslichkeit der bei der Wassermannschen Reaktion wirkenden Stoffe festgestellt war, konnte man annehmen, daß gewisse Beziehungen zwischen ihnen und den Extrakthämolysinen beständen. Daß in der Tat, wie von vornherein zu erwarten war, auch die aus syphilitischen Fötallebern gewonnenen Extrakte hämolytisch wirken, ist eine allgemeine Erfahrung, und Bauer³⁾ hat besonders darauf hingewiesen, indem er

1) Cfr. hierzu J. Morgenroth und P. Schäfer, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 21, 1909, und H. Liefmann und M. Cohn, ebenda, Bd. 26, 1910, woselbst die einschlägige Literatur zu finden ist.

2) U. Friedemann, *Arch. f. Hyg.*, Bd. 69, 1909.

3) J. Bauer, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 10, 1908, p. 301.

gleichzeitig aus gewissen Parallelen den Schluß zog, daß es dieselben Substanzen sind, die einerseits hämolytisch wirken, andererseits bei der Wassermannschen Reaktion reagieren. Weitere Erfahrungen haben uns mit einer ganzen Reihe von Eigenschaften bekannt gemacht, welche auf enge Beziehungen in der erörterten Richtung schließen lassen. So sei nur daran erinnert, daß innerhalb gewisser Grenzen die hämolytische Kraft verschiedener Extrakte ihrer Wirksamkeit bei der Wassermannschen Reaktion proportional zu sein scheint. Ferner haben bereits Sachs und Rondoni¹⁾ darauf hingewiesen, daß die Verstärkung, welche die hämolytische Wirkung von Seife-Lecithingemischen durch Alkohol erfährt, auch ihre Funktion bei der Wassermannschen Reaktion betrifft. Die gleichen Beziehungen treffen für die natürlichen Organextrakte zu. Dafür sprechen der von Morgenroth und Schäfer (l. c.) geführte Nachweis des begünstigenden Einflusses des Alkohols auf die Extrakthämolyse, sowie zahlreiche Erfahrungen des hiesigen Laboratoriums, nach denen es sich, um stark wirkende Extrakte für die Wassermannsche Reaktion zu erhalten, empfiehlt, die alkoholischen Extrakte nicht mehr als 6-fach mit physiologischer Kochsalzlösung zu verdünnen, vielmehr, wenn angängig, der alkoholischen Stammlösung eine geeignete Menge Alkohols hinzuzufügen²⁾.

1) H. Sachs und P. Rondoni, Diese Zeitschr., Bd. 1, 1908, p. 132.

2) Eine Proportionalität zwischen hämolytischer und antikomplementärer Extraktwirkung darf natürlich nur innerhalb gewisser Grenzen angenommen werden. So hatte sich bereits aus den Untersuchungen von Sachs und Rondoni (l. c.) ergeben, daß Lecithin zwar die hämolytische und antikomplementäre Wirkung der Seife gleichzeitig reduziert, aber die Mischung gerade für die Wassermannsche Reaktion geeignet macht, und dieselben Autoren haben an anderer Stelle (Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 44) gezeigt, daß die verschiedene Herstellungsart der Extraktverdünnungen zwar auf ihre Reaktionsfähigkeit von Einfluß ist, aber eine Veränderung der hämolytischen Wirkung nicht bedingt. Neuere Untersuchungen von Gatz und Inaba (Biochem. Zeitschr., Bd. 28, 1910, p. 374) weisen sogar darauf hin, daß unter Umständen durch verschiedenartiges Verdünnen hämolytische Wirkung und Reaktionsfähigkeit der Extrakte im entgegengesetzten Sinne alteriert werden können. Verwiesen sei auch auf die Arbeit von Facchini (Diese Zeitschr., Bd. 2, 1909, p. 257).

Die Untersuchungen, über die im folgenden berichtet werden soll, und deren Ausführung schon vor längerer Zeit erfolgte, hatten von ähnlichen Gesichtspunkten aus ihren Ausgang genommen. Damals hatten nämlich Sachs und Altmann¹⁾ gezeigt, daß die Wassermannsche Reaktion durch die Azidität des Mediums verstärkt, durch eine Alkalieszenz abgeschwächt oder sogar aufgehoben werden kann. Ich suchte daher festzustellen, ob Säure und Alkali im entsprechenden Sinne auch die hämolytische Funktion der Organextrakte zu beeinflussen imstande wären.

Im Anschluß daran ergaben sich noch einige andere, die Kenntnis der Lipoidwirkungen betreffende Fragen, auf die an den entsprechenden Stellen eingegangen werden soll.

a) Die Wirkung von Säure und Alkali auf die Hämolyse durch Organextrakte.

Zur Analyse der Wirkung von Alkali und Säure auf die Extrakthämolysine dienten einerseits Normal-Salzsäure und n-Natronlauge, andererseits die zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion hergestellten alkoholischen Extrakte aus syphilitischen Lebern. Als Blutart fungierte Hammel- oder Rinderblut, ersteres in 7-proz., letzteres in 5-proz. Suspension in physiologischer Kochsalzlösung. Die Versuchsröhrchen blieben 2 Stunden bei 37° und wurden dann über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Die in den folgenden Tabellen notierten Ergebnisse beziehen sich, wenn nichts anders angegeben, auf die nach dieser Zeit abgelesenen Befunde.

Die Wirkung der Salzsäure auf nicht mehr hämolytische Extraktdosen demonstriert folgendes Versuchsbeispiel.

Absteigende Mengen n-Salzsäure (Volumen 1,0 ccm) wurden mit je 2 ccm 16-fach verdünnten alkoholischen Organextraktes und je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert (Reihe A). Zur Kontrolle diente Reihe B, in der die Salzsäure nur auf Hammelblut einwirkte, während die Extraktverdünnung durch je 2 ccm physiologische Kochsalzlösung ersetzt war. Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

1) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14; cf. hierzu auch S. Abramow, Diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, p. 145.

Tabelle I.

Mengen der n-HCl ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen n-HCl	
	A unter Zusatz von Organextrakt	B allein
0,01	komplett	komplett
0,008	"	wenig
0,006	"	0
0,005	"	0
0,004	"	0
0,003	stark	0
0,0025	"	0
0	0	0

Die Tabelle zeigt, daß durch das Zusammenwirken von nichtlösenden Mengen der Salzsäure und des Organextraktes komplette Hämolyse resultiert, wobei auch das doppelte Multiplum solcher Salzsäuremengen, welche eine stark hämolytische Wirkung des Organextraktes bedingen, an und für sich jeglicher hämolytischen Funktion entbehrt. Es läßt sich außerdem leicht zeigen, daß auch diejenigen Dosen von Organextrakt, welche bei saurer Reaktion noch zu einer erheblichen hämolytischen Wirkung führen, von denjenigen, welche an und für sich hämolytisch wirken, recht weit entfernt sind.

Es wurden absteigende Mengen von alkoholischem Organextrakt gemischt:

in Reihe A mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von je 1 ccm $\frac{1}{100}$ n-Salzsäure,

in Reihe B mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung.

Das Volumen betrug überall 4 ccm. Das Ergebnis ist in Tabelle II notiert.

Tabelle II.

Mengen des 4-fach verdünnten Organ- extraktes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen von Organextrakt	
	A unter Zusatz von Salzsäure	B allein
0.4	komplett	0
0.3	"	0
0.2	"	0
0.1	stark	0
0,09	mäßig	0
0,05	0	0

Auch hier dokumentiert sich also eine erhebliche Verstärkung, welche die hämolytische Wirksamkeit des Extraktes durch einen geeigneten Salzsäurezusatz erfährt.

Hätte man nun im Gegensatz zu der verstärkenden Wirkung der Säure eine hemmende Wirkung eines Alkaligehaltes erwarten können, so zeigte sich zunächst ganz im Gegenteil bei entsprechender Kombination von Organextrakt und Natronlauge ein prinzipiell gleichartiges Verhalten.

Tabelle III möge als Beleg hierfür dienen:

- in Reihe A wurden absteigende Mengen des alkoholischen Organextraktes mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von je 1 ccm $\frac{1}{100}$ n-Natronlauge,
in Reihe B nur mit Hammelblut bei einem Gesamtvolumen von je 4 ccm digeriert.

Tabelle III.

Mengen des 4-fach verdünnten Organextraktes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen von Organextrakt	
	A unter Zusatz von NaOH	B allein
0,4	komplett	0
0,3	"	0
0,2	"	0
0,1	mäßig	0
0,09	wenig	0
0,05	Spürchen	0
0,025	0	0

Die Tabelle zeigt, daß durch Alkali ebenso wie durch Säure eine erhebliche Verstärkung der hämolytischen Wirkung in Kombination mit dem Extrakte hervorgerufen werden kann, und unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse dürfte man die beobachteten Phänomene kaum lediglich auf eine Additionswirkung zurückführen können. Eine fortgesetzte Analyse unter Variation der Alkalikonzentration zeigte jedoch, daß die Berücksichtigung der letzteren hier von ausschlaggebender Bedeutung ist. Wurde nämlich eine an und für sich hämolytisch wirkende Extrakt-dose mit absteigenden Mengen Natronlauge digeriert, so trat sehr markant eine hemmende Wirkung des Alkalis in Erscheinung, wie es folgendes Versuchsbeispiel lehrt.

Absteigende Mengen n-Natronlauge wurden (cf. Tabelle IV):

in Reihe A mit je 0,5 ccm eines mit physiologischer Kochsalzlösung 4-fach verdünnten alkoholischen Organextraktes und 1 ccm Hammelblutaufschwemmung,

in Reihe B nur mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert, wobei das Gesamtvolumen wiederum 4 ccm betrug.

Tabelle IV.

Menge der n-NaOH	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Natronlauge			
	A Unter Zusatz von Organextrakt		B allein	
	Nach 50 Min.	Endresultat	Nach 50 Min.	Endresultat
0,02	komplett	komplett	0	komplett
0,016	0	"	0	stark
0,015	0	"	0	0
0,01	0	"	0	0
0,008	0	stark	0	0
0,006	0	0	0	0
0,005	0	0	0	0
0,004	0	0	0	0
0,003	0	0	0	0
0,0025	mäßig	komplett	0	0
0,002	fast komplett	"	0	0

Hier zeigt sich also, daß ein geeigneter Zusatz von Natronlauge eine vollständige Hemmung der durch die Wirkung des Organextraktes bedingten Hämolyse veranlassen kann. Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist die Hemmung aber auf eine nicht sehr weite Zone bestimmter Alkalikonzentration beschränkt. Bei einem Ueberschuß von Alkali tritt wiederum Hämolyse ein. Ein Vergleich der Kolonnen A und B der Tabelle zeigt andererseits, daß wir hier die eingetretene Hämolyse noch nicht auf die hämolytische Wirkung der Natronlauge beziehen können, denn die hämolytische Wirkung ist in Reihe A mindestens doppelt so stark, wie in Reihe B. Von einer Additionswirkung wird man schwerlich sprechen können, da ja bereits erheblich geringere Alkalimengen eine vollständige Inaktivierung der hämolytischen Extraktwirkung zur Folge haben und die Hämolyse gegenüber der durch den Extrakt allein bedingten erheblich verlangsamt erscheint. Bei dieser Sachlage dürfte die Erklärung wahrscheinlich erscheinen, daß hier zwei entgegengesetzt gerichtete

Prozesse interferieren, indem einerseits ein Alkaligehalt die hämolytische Wirkung des Organextraktes hemmt, andererseits der Organextrakt die hämolytische Wirkung der Natronlauge verstärkt.

Jedenfalls lassen die mitgeteilten Untersuchungen den Schluß zu, daß die hämolytische Wirkung der Organextrakte durch Salzsäure verstärkt, durch Natronlauge gehemmt wird, und es läßt sich also auch hier ein gewisser Parallelismus zu dem Verhalten bei der Wassermannschen Reaktion konstatieren. Jedoch ist zu beachten, daß ein Alkaliüberschuß im Verein mit nicht lösenden Extrakt-dosen Hämolyse bedingen kann. Die durch das Zusammenwirken von Säure (und eventuell auch von Alkali) und Organextrakt entstehende hämolytische Wirkung dürfte bei der Wassermannschen Reaktion auch insofern eine methodologische Bedeutung haben, als bei der Verwendung saurer Untersuchungsflüssigkeiten trotz Benutzung an und für sich nicht hämolytischer Extrakt-dosen eine Hämolyse störend interferieren kann. In diesem Sinne ist bereits von Höhne¹⁾ darauf hingewiesen worden, daß eine durch alleinigen Zusatz von Urin bedingte Hemmung durch das Hinzufügen des Extraktes aufgehoben werden kann, und daß es nahe liegt, dieses Phänomen auf eine durch die Kombination von sauer reagierendem Urin und Organextrakt entstehende Hämolyse zu beziehen.

b) Die Wirkung von Säure und Alkali auf die Hämolyse durch oleinsaures Natron und Oleinsäure.

Ueberblickt man die geschilderte Beeinflußbarkeit der Extrakthämolyse durch Säure und Alkali in anderem Sinne, so ist ein enger Parallelismus zu einigen bereits bekannten und auch von mir näher analysierten Eigenschaften der durch Seifen bedingten hämolytischen Wirkung unverkennbar. Nach v. Liebermann²⁾ wird nämlich die hämolytische Wirkung von Seifenlösungen durch Alkali gehemmt. Allerdings gibt v. Liebermann auch für einen Zusatz von Säure eine gleich-

1) F. Höhne, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 32.

2) L. v. Liebermann, Arch. f. Hyg., Bd. 62, p. 277, und Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 1907, p. 25.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

sinnig gerichtete Funktion an. Im Gegensatz dazu konnten jedoch bereits M. Friedemann und F. Sachs¹⁾ eher eine Beschleunigung und Verstärkung der Seifenhämolyse durch Säure konstatieren, während sie sich von einer Hemmung bei Zusatz von Natronlauge zur Seife überzeugen konnten. Mit den letzteren Angaben würden also die von mir bei der Untersuchung von Organextrakten erhobenen Befunde im wesentlichen übereinstimmen. Da aber eine vollkommene Kongruenz der Angaben bisher nicht besteht, darf ich mir vielleicht erlauben, meine Erfahrungen über die Seifenhämolyse kurz mitzuteilen.

Was zunächst die Wirkung der Salzsäure anlangt, so ergab sich mir in zahlreichen Versuchen stets ein verstärkender Einfluß. Als Beispiel diene folgendes Protokoll, das sich auf einen Versuch mit gleichzeitiger Verwendung von Hammel- und Rinderblut bezieht.

Absteigende Mengen von Seifenlösung²⁾ wurden in den Reihen:

A allein,

B unter Zusatz von je 0,004 ccm n-Salzsäure,

C unter Zusatz von je 0,002 ccm n-Salzsäure,

D unter Zusatz von je 0,001 ccm n-Salzsäure mit 1 ccm Blutaufschwemmung digeriert.

In den Reihen I gelangte Hammelblut, in den Reihen II Rinderblut zur Verwendung. Das Gesamtvolumen betrug überall 2,2 ccm. Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen der 1-proz. Seifen- lösung ccm	Hämolyse von							
	I. Hammelblut				II. Rinderblut			
	a allein	b + 0,004 ccm n-HCl	c + 0,002 ccm n-HCl	d + 0,001 ccm n-HCl	a allein	b + 0,004 ccm n-HCl	c + 0,002 ccm n-HCl	d + 0,001 ccm n-HCl
0,05	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	komplett	kompl.	kompl.	kompl.
0,025	0	"	"	0	"	"	"	"
0,015	0	"	"	0	Spur	"	"	"
0,01	0	"	"	0	Spürchen	"	"	"
0,005	0	"	"	0	0	"	"	Spur
0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

1) M. Friedemann und F. Sachs, Biochem. Zeitschr., Bd. 12, 1908, p. 259.

2) Es handelte sich um 1-proz. Lösungen von Natrium oleinicum (Kahlbaum) in physiologischer Kochsalzlösung.

Aus der Tabelle ergibt sich in Uebereinstimmung mit den Angaben von Friedemann und Sachs eine Verstärkung der Seifenhämolyse durch Säure, für deren Grad sogar die Additionswirkung als alleiniges Erklärungsprinzip nicht ausreichen dürfte. Denn, wie aus der Tabelle ersichtlich, wird bei Verwendung von Hammelblut die Seifenhämolyse um das 10-fache verstärkt, und zwar sicherlich bereits durch solche Säuremengen, deren doppeltes Multiplum an und für sich jeglicher hämolytischer Wirkung entbehrt. Gegenüber Rinderblut erwies sich die Seife an und für sich von stärkerer hämolytischer Wirkung, während die durch Säurezusatz bedingte Verstärkung den für das Hammelblut ermittelten Wert nicht überschritt.

Sind also hier im Prinzip dieselben Verhältnisse vorhanden, wie sie uns bei der Beeinflussung der hämolytischen Wirkung des Organextraktes begegneten, so zeigte sich bei der Analyse der Beziehungen zwischen Alkali und Seifenhämolyse das bereits durch von Liebermann, sowie Friedemann und Sachs beschriebene Verhalten.

Absteigende Mengen Seifenlösung wurden in

- Reihe A unter Zusatz von je 0,01 ccm n-Natronlauge,
- Reihe B unter Zusatz von je 0,005 ccm n-Natronlauge,
- Reihe C unter Zusatz von je 0,0034 ccm n-Natronlauge,
- Reihe D allein

mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert, wobei das Volumen überall 4 ccm betrug (cfr. Tabelle VI).

Tabelle VI.

Mengen der 1-proz. Seifen- lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Seifenmengen			
	a + 0,01 ccm n-NaOH	b + 0,005 ccm n-NaOH	c + 0,0034 ccm n-NaOH	d allein
0,15	komplett	komplett	komplett	komplett
0,1	"	mäßig	"	"
0,05	"	Spur	mäßig	stark
0,025	"	Spürchen	0	0
0,015	stark	0	0	0
0,01	wenig	0	0	0
0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß größere und kleinere Alkalimengen different wirken können. Während erstere die

Seifenwirkung sichtlich verstärken, wird durch letztere die hämolytische Wirkung der Seifen deutlich gehemmt. Es handelt sich hier nur um eine geringfügige Hemmung, und das stimmt mit den Angaben von Friedemann und Sachs überein. Der geringe Grad ist aber doch nur ein scheinbarer; denn es konkurrieren hier, wie man bereits aus der verstärkenden Wirkung größerer Alkalimengen (Kolonne A und auch B der Tabelle) schließen darf, 2 Phänomene, aus deren Resultate die einzelnen Funktionen nicht mehr deutlich zu differenzieren sind. Sehr oft erhielt ich aber weit eklatantere Resultate, wenn ich absteigende Alkalimengen mit einer gleichbleibenden Seifendosis zusammenwirken ließ. Ein derartiges Versuchsbeispiel zeigt Tabelle VII, wobei das Gesamtvolumen überall 4 ccm betrug.

Tabelle VII.

Menge der Normal-Natron- lauge ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Normal- Natronlauge	
	a unter Zusatz von 0,1 ccm 1-proz. Seife	b allein
0,01	komplett	Spürchen
0,008		0
0,006	Spürchen	0
0,005	0	0
0,0015	0	0
0,00125	fast komplett	0
0,001	komplett	0

Hier zeigt sich also die hemmende Wirkung der Natronlauge auf die Seifenhämolyse in sehr eklatanter Weise, während bei einem Ueberschuß von Natronlauge, wenn auch in noch nicht lösenden Dosen, wiederum Hämolyse eintritt, ein Verhalten, welches den in Tabelle IV zum Ausdruck gelangten Beziehungen zwischen Alkali und Organextrakt durchaus entspricht. Nicht immer war aber eine so breite Hemmungszone festzustellen, wie sie in Tabelle VII ersichtlich ist. Das Versuchsergebnis variierte in ziemlich erheblichen Grenzen, wofür wohl unter anderem die verschiedene Empfindlichkeit des Blutes verantwortlich gemacht werden könnte. Immer aber konnte eine deutliche Hemmung der Seifenhämolyse durch Alkali festgestellt werden, wenn sie auch zuweilen in dem Endresultat nur bei einer

ganz bestimmten Alkalikonzentration zum Ausdruck kam. Dafür sei noch folgendes Versuchsbeispiel angeführt.

Es wurden absteigende Mengen n-Natronlauge in den Reihen A allein, B unter Zusatz von je 0,05 ccm 1-proz. Seifenlösung mit je 1 ccm Blut-aufschwemmung digeriert.

In den Reihen I kam Hammelblut, in den Reihen II Rinderblut zur Verwendung. Das Gesamtvolumen betrug überall 2,2 ccm. Das Ergebnis zeigt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Mengen der n-NaOH ccm	Hämolyse von			
	I. Hammelblut		II. Rinderblut	
	a allein	b + 0,05 ccm 1-proz. Seife	a allein	b + 0,05 ccm 1-proz. Seife
0,01	wenig	komplett	komplett	komplett
0,008	0	"	"	"
0,006	0	"	"	"
0,005	0	"	"	mäßig
0,004	0	"	wenig	"
0,003	0	"	Spur	"
0,0025	0	stark	0	0
0,002	0	Spürchen	0	Spürchen
0,0015	0	stark	0	wenig
0,00125	0	komplett	0	mäßig
0,001	0	"	0	komplett

In dieser Tabelle zeigt sich deutlich, wie oftmals die hemmende Wirkung der Natronlauge auf die Seifenhämolyse nur bei einer ganz bestimmten Konzentration in Erscheinung treten kann. Zugleich illustriert die Tabelle, besonders in dem auf Hammelblut bezüglichen Teil, die verstärkende Wirkung, welche die Seife auf die durch Natronlauge bedingte Hämolyse ausübt. Im Sinne einer Summationswirkung kann man dieses Phänomen schwerlich auffassen, und es besteht daher auch bei der Seifenhämolyse, ebenso wie bei der Hämolyse durch Organextrakte, die paradoxe Tatsache, daß kleinere Alkalimengen hemmend, größere verstärkend interferieren können, worauf übrigens auch Angaben von Friedemann und F. Sachs hindeuten. Es zeigen sich nach alledem weitgehende Analogien in dem Verhalten von Extrakt- und Seifenhämolyse gegenüber Säure- und Alkaliwirkung. Trotzdem dürfte es nicht angängig sein, aus dem sich hier ergebenden Parallelismus ohne weiteres auf eine Identität des hämolytischen Prinzips

der Organextrakte mit den Seifen zu schließen, Denn auch andere lipoidartige Substanzen verhalten sich gleichen Einflüssen gegenüber ganz analog. So ist von Arrhenius¹⁾ angegeben worden, daß durch das Zusammenwirken von Lecithin und Säuren die Hämolyse erheblich verstärkt wird²⁾, wobei man freilich einwenden kann, daß es sich bei dem Lecithin um Seifenbeimengungen handelte. Ich habe aber die Untersuchung auch auf die Oleinsäure (Kahlbaum) ausgedehnt und bin hier ganz entsprechenden Verhältnissen begegnet. Man hätte ja zunächst annehmen können, daß es sich wenigstens bei dem Zusammenwirken von Seife und Salzsäure um chemische Prozesse handelte, indem durch das Entstehen von Oelsäure und Kochsalz eine stärkere hämolytische Kraft resultiert. Zwar wird ja die hämolytische Wirkung der Oleinsäure geringer angegeben, als diejenige ihres Natriumsalzes, aber andererseits muß man in Betracht ziehen, daß durch eine erhöhte Salzkonzentration, wie auch ich mich überzeugt habe, die hämolytische Wirkung der Lipoide gesteigert werden kann. Wenn aber die Salzsäure auf die Oelsäure ebenso wirkt, so wird man von einer derartigen Erklärungsmöglichkeit von vorneherein absehen müssen, und daß dem so ist, dafür möge das folgende Versuchsbeispiel als Beleg dienen.

Absteigende Mengen einer 1-proz. Lösung von Oleinsäure³⁾ (Kahlbaum) wurden

in Reihe A allein,

in Reihe B unter Zusatz von 0,005 ccm n-Salzsäure,

in Reihe C unter Zusatz von 0,0025 ccm n-Salzsäure

mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert. Das Gesamtvolumen betrug überall 4 ccm. Das Ergebnis zeigt Tabelle IX.

1) S. Arrhenius, Meddelanden från K. Vetenskapsakademiens Nobelinstitut, Bd. 1, 1908, No. 10.

2) Ob man auch die von Landsteiner und Jagič (Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27) entdeckte Hämolyse durch das Zusammenwirken von kolloidaler Kieselsäure und Lecithin den hier behandelten Phänomenen einreihen darf, erscheint zweifelhaft (vergl. hierzu Landsteiner, Handb. d. Biochemie, Bd. 2, 1. Hälfte, 1910, p. 445).

3) Die 1-proz. Lösung der Oelsäure wurde stets in der Weise hergestellt, daß 1 ccm Oelsäure mit 9 ccm Alkohol verdünnt wurde. Aus dieser alkoholischen Lösung resultierte durch Verdünnen mit 9 Teilen physiologischer Kochsalzlösung die 1-proz. Lösung.

Tabelle IX.

Mengen der 1-proz. Oelsäure ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Oelsäure		
	a allein	b + 0,005 ccm n-HCl	c + 0,0025 ccm n-HCl
0,5	komplett	komplett	komplett
0,25	0	"	"
0,15	0	"	"
0,1	0	"	"
0,05	0	"	fast komplett
0,025	0	0	0

Es ergab sich also auch für die Hämolyse durch Oleinsäure eine ganz beträchtliche Verstärkung durch Salzsäure. Ganz entsprechend erwies sich die Natronlauge von hemmendem Einfluß auf die Oelsäurehämolyse. Dafür sei folgendes, die Hämolyse von Rinderblut und Hammelblut umfassendes, Versuchsbeispiel angeführt.

Absteigende Mengen von n-Natronlauge wurden

in den Reihen A allein,

in den Reihen B unter Zusatz von 0,4 ccm (Hammelblut), resp. 0,2 ccm (Rinderblut) einer 1-proz. Oelsäurelösung mit 1 ccm Blutauflösung digeriert.

In den Reihen I kam Hammelblut, in den Reihen II Rinderblut zur Verwendung. Das Volumen betrug überall 2,4 resp. 2,2 ccm. Das Ergebnis zeigt Tabelle X.

Tabelle X.

Mengen der Normal- Natronlauge ccm	Hämolyse durch absteigende Mengen n-NaOH			
	I. Hammelblut		II. Rinderblut	
	a allein	b + 0,4 ccm 1-proz. Oelsäure	a allein	b + 0,2 ccm 1-proz. Oelsäure
0,01	wenig	komplett	komplett	komplett
0,008	0	"	"	"
0,006	0	"	"	wenig
0,005	0	0	"	Spürchen
0,004	0	0	wenig	"
0,003	0	0	Spur	0
0,0025	0	stark	0	0
0,002	0	komplett	0	0
0,0015	0	"	0	0
0,00125	0	"	0	0
0,001	0	"	0	Spur
0	0	"	0	komplett

Das in der Tabelle zum Ausdruck gelangende Ergebnis entspricht in der Tat den Verhältnissen, denen wir bei der Analyse der Beziehungen zwischen Seife und Alkali begegnet sind, indem in beiden Fällen die Natronlauge eine markante Hemmung der Hämolyse bedingt.

Hingewiesen sei auch auf das Verhalten der hämolytischen Wirkung der Natronlauge, das in dem vorliegenden Versuchsbeispiel durchaus den bereits in Tabelle VIII notierten Verhältnissen entspricht. Zunächst ist ersichtlich, daß Natronlauge Rinderblut bereits in nicht unerheblich geringeren Mengen zerstört als Hammelblut. Ferner zeigen die beiden genannten Tabellen übereinstimmend, daß die geringe hämolytische Wirkung der Natronlauge für Hammelblut durch Seife oder Oelsäure eine Verstärkung erfährt, während bei der stärkeren Hämolyse des Rinderblutes eine Verminderung durch die gleichen Zusätze unverkennbar ist. Soweit die Oelsäure in Betracht kommt, könnte man wohl daran denken, daß die Alkaliwirkung durch die Bildung von ölsaurem Natrium eine Reduktion erfährt. Da aber eine derartige Erklärung für die gleichsinnigen Beziehungen zwischen Alkali und Seife nicht angängig erscheint, so dürfte es vorläufig schwierig sein, eine befriedigende Anschauung über die hier vorliegenden Erscheinungen zu bilden. Die verschiedene Beschaffenheit des Hammelblutes und Rinderblutes dokumentiert sich auch darin, daß die hemmende Wirkung der Natronlauge gegenüber der Hämolyse des Rinderblutes bereits in geringeren Konzentrationen eintritt als gegenüber der Hämolyse des Hammelblutes¹⁾.

Als wesentliches Ergebnis können wir wohl die Tatsache betrachten, daß die hämolytische Wirkung der Oelseife und der Oelsäure ebenso wie diejenige der Organextrakte durch Alkali gehemmt, durch Säure verstärkt wird. Von einer einheitlichen Erklärung im Sinne gegenseitiger Umsetzung der reagierenden Sub-

1) Die Verschiedenheit der Oelsäuredosen entsprach der verschiedenen Empfindlichkeit der Blutarten.

stanzen wird man nach den obigen Ausführungen wohl absehen dürfen ¹⁾).

Es wäre daher an die Möglichkeit zu denken, daß Säure und Alkali direkt auf die Blutzellen wirken, indem erstere die Resistenz vermindert, letzteres sie erhöht. In dieser Hinsicht wird bereits von M. Friedemann und F. Sachs (l. c.) angegeben, daß mit Natronlauge vorbehandeltes Ziegenblut von ölsaurem Natrium in derselben Weise gelöst wird, wie nicht behandeltes. Meine eigenen Versuche in dieser Richtung lassen eine bestimmte Schlußfolgerung nicht zu. Ich sah wohl oft nach Vorbehandlung der Blutkörperchen mit Säure trotz zweimaligen Waschens eine mehr oder minder gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber der Hämolyse durch Seife und Oelsäure eintreten und konnte ebenso bei entsprechender Vorbehandlung mit Alkali zuweilen eine etwas erhöhte Resistenz beobachten. Indes schien in einigen Versuchen durch weiteres Wiederholen des Waschens die Empfindlichkeit des Blutes dem ursprünglichen Zustande immer näher zu kommen. Ich halte mich daher nicht für berechtigt, aus den im Sinne einer direkten Einwirkung von Alkali oder Säure auf das Blut sprechenden Versuchen eine bestimmte Schlußfolgerung zu ziehen, wenn ich auch besonders für die Säurewirkung der Ansicht zuneige, daß es sich wenigstens teilweise um eine direkte Beeinflussung der Blutzellen handeln könnte. Bei der von Landsteiner und Jagič beschriebenen Hämolyse durch Kieselsäure und Lecithin bewirkt bekanntlich gerade die vorhergehende Behandlung des Blutes mit Kieselsäure den hämolytischen Effekt, während Arrhenius für die Hämolyse durch das Zusammenwirken von Säuren und Lecithin umgekehrt festgestellt hat, daß der hämolytische Effekt um so größer ist, je länger das Lecithin vor dem Säurezusatz mit den Blutkörperchen in Berührung gewesen ist. Vielleicht spielt ein derartiger Modus auch in den hier beschriebenen Fällen eine Rolle; nähere Versuche in dieser Richtung wurden nicht ausgeführt.

1) Uebrigens zeigten vergleichende Untersuchungen, daß bei einstündigem Digerieren von Seife und Salzsäure vor dem Blutzusatz die Verstärkung der Hämolyse eher weniger deutlich in Erscheinung trat, als bei sofortigem Zusatz des Blutes.

Ob die hier behandelten Erscheinungen des Zusammenwirkens von Lipoiden mit Säure und Alkali bei der Hämolyse mit dem zuerst von v. Liebermann (l. c.) und v. Dungern und Coca¹⁾ beschriebenen, von F. Sachs²⁾ eingehend analysierten Phänomen der raschen Hämolyse bei sukzessivem Zusatz von Lipoid und Serum resp. Alkali in Zusammenhang stehen, soll dahingestellt bleiben. Verwiesen sei in dieser Richtung auch auf die neueren Untersuchungen von Liebermann und Cohn (l. c.), die auch bei sukzessivem Zusatz von Lipoid und Säure über momentane Hämolyse berichten, während F. Sachs hierbei nur eine Beschleunigung eintreten sah.

c) Zur Frage der Beziehungen zwischen hämolytischer Wirkung der Seifen und Komplemente.

Nachdem es sich gezeigt hat, daß die hämolytische Wirkung der Seife und Oelsäure durch Säurezusatz in mehr oder weniger hohem Grade verstärkt wird, konnte man annehmen, daß das Zusammenwirken von Seife und Oelsäure zu der analogen Erscheinung führt. Bekanntlich hat v. Liebermann (l. c.) Hämolyse durch das Zusammenwirken der Oelsäure mit einem unwirksamen Gemisch von Seife und Serum beschrieben und daraus entsprechend der von ihm versuchten Auffassung der Komplemente als den Seifeneiweißverbindungen ähnlich gebaute Körper auf eine ambozeptorartige Rolle der Oleinsäure geschlossen. Demgegenüber konnten M. Friedemann und F. Sachs (l. c.) zeigen, daß es sich bei dem v. Liebermannschen Versuch einfach um eine Summationswirkung der Oelsäure und des Seifenserumgemisches handelte. Wie zu erwarten war, gelingt es auch durch das Zusammenwirken reiner Seifenlösungen mit Oelsäure zu einem entsprechenden Ergebnis zu gelangen. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt.

Absteigende Mengen von ölsaurem Natrium wurden in

Reihe A allein,

Reihe B unter Zusatz von 0,1 ccm 1-proz. Oelsäure,

Reihe C unter Zusatz von 0,05 ccm 1-proz. Oelsäure,

1) v. Dungern und Coca, Berl. klin. Wochenschr., 1908.

2) F. Sachs, Biochem. Zeitschr., Bd. 12, 1908, p. 278.

Reihe D unter Zusatz von 0,025 ccm 1-proz. Oelsäure,

Reihe E unter Zusatz von 0,0125 ccm 1-proz. Oelsäure

mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert. Das Volumen betrug überall 2,2 ccm; das nach 2-stündigem Aufenthalt bei 37° notierte Ergebnis zeigt Tabelle XI.

Tabelle XI.

Mengen d. ölsauren Natriums (1-proz.) ccm	Hämolyse von Hammelblut				
	A allein	B + 0,1 ccm 1-proz. Oelsäure	C + 0,05 ccm 1-proz. Oelsäure	D + 0,025 ccm 1-proz. Oelsäure	E + 0,0125 ccm 1-proz. Oelsäure
0,05	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,025	Spur	"	"	"	"
0,015	0	"	"	Spürchen	0
0,01	0	"	"	0	0
0,005	0	"	Spürchen	0	0
0,0025	0	"	0	0	0
0,0015	0	fast komplett	0	0	0
0,001	0	Spur	0	0	0
0	0	"	0	0	0

Wir sehen also, daß es in der Tat gelingt, durch das Zusammenwirken nichtlösender Dosen von Seife und Oelsäure komplette Hämolyse zu erzielen (cf. hierzu auch: Liefmann und Cohn, l. c.). Die Verstärkung ist hier nicht sehr hochgradig, da in Betracht zu ziehen ist, daß die größte der verwendeten Oelsäuremengen bereits an und für sich partielle Hämolyse bedingte. Wenn man die Forderungen sehr streng formuliert und zum Ausschluß von Summationswirkungen verlangt, daß jede der beiden Komponenten auch in dem doppelten Multiplum der in Betracht kommenden Dosen an und für sich der hämolytischen Wirkung entbehrt, so wird man die in dieser Tabelle zum Ausdruck gelangenden Erscheinungen in den Bereich der Summationswirkungen verweisen müssen. Indes könnte man vielleicht doch auch hier von einer geringgradigen Verstärkung im eigentlichen Sinne sprechen, wenn man berücksichtigt, daß durch solche Dosen jeder der beiden Komponenten, deren doppeltes Multiplum nicht mehr hämolytisch wirkt, die hämolytische Wirkung der anderen Komponente immerhin recht erheblich verstärkt wird. Ich neige daher zu der Annahme, daß die Verstärkung der Seifenhämolyse durch Oelsäure einen Spezialfall der verstärkenden Säurewirkung im allgemeinen

darstellt. Da mithin die zuerst von v. Liebermann beim Zusammenwirken von Oelsäure mit Seifeneiweißgemischen beobachtete Erscheinung auch durch gegenseitige Beeinflussung von Seife und Oelsäure demonstriert werden kann, so scheint um so weniger ein Grund dafür zu bestehen, in dem Phänomen ein Analogon für die Ambozeptor-Komplementwirkung zu suchen.

Von gleichem Gesichtspunkte aus dürften auch späterhin mitgeteilte Untersuchungen v. Liebermanns und v. Fenyvessys¹⁾ zu betrachten sein. Die genannten Autoren haben nämlich, um dem von M. Friedemann und F. Sachs erhobenen Summationseinwand zu begegnen, die Oelsäure durch Borsäure ersetzt und nunmehr durch das Zusammenwirken von solchen Dosen Borsäurelösung und eines Gemisches von Seife und Albumin komplette Hämolyse erzielt, daß eine Summation in der Tat auszuschließen ist. Trotzdem erscheint es aber nicht berechtigt, dabei von „Aktivierung“ im Sinne der Ambozeptorkomplementfunktion zu sprechen, weil es sich nach Analogie der hier mitgeteilten Salzsäureversuche um eine einfache die Seifenhämolyse verstärkende Wirkung der Borsäure handeln kann²⁾. Wenn nämlich die Borsäure auch die hämolytische Wirkung der Seife an und für sich verstärken sollte — entsprechende Versuche sind von den Autoren nicht mitgeteilt —, so wäre es von vornherein zu erwarten, daß in gleicher Weise Gemische von Seife und Serum bei Borsäurezusatz entsprechend stärker wirken.

Es stehen mir auch Versuchsprotokolle zur Verfügung, aus denen sich, wie nicht anders zu erwarten war, eine Aktivierung unwirksamer Gemische von Seife und Blutserum durch Salzsäurezusatz ergab. Ich darf vielleicht ein hierher gehöriges Versuchsbeispiel anführen, das zugleich eine parallele Versuchs-

1) L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy, Diese Zeitschrift, Bd. 2, 1909, p. 436.

2) Ich selbst habe Versuche mit Borsäure nicht angestellt, da die vorliegenden Untersuchungen, deren Ausführung bereits längere Zeit zurückliegt, bereits abgeschlossen waren, als ich von der betr. Arbeit v. Liebermanns und v. Fenyvessys Kenntnis erhielt. Jedoch ist für das Lecithin bereits von Arrhenius (l. c.) eine bedeutende Verstärkung der hämolytischen Kraft durch das Zusammenwirken mit Borsäure beschrieben worden.

reihe mit einer solchen Seifenmenge, welche bei Säurezusatz die äquivalente hämolytische Wirkung ausübte, einschließt.

Absteigende Mengen inaktivierten Kaninchenserums (Volumen 1 ccm) wurden digeriert in:

Reihe A mit 1 ccm 0,2-proz. Lösung von ölsaurem Natrium,

Reihe B mit der gleichen Seifendosis und je 1 ccm $\frac{1}{400}$ n-Salzsäure,

Reihe C mit je 1 ccm 0,02-proz. Lösung von ölsaurem Natrium und je 1 ccm $\frac{1}{400}$ n-Salzsäure.

Überall erfolgte Zusatz von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung bei einem gleichbleibendem Gesamtvolumen von 4 ccm.

Die Verstärkung der hämolytischen Seifenwirkung durch Salzsäure wurde in einem besonderen Vorversuch ermittelt, und es ergab sich hierbei, wie das folgende Protokoll zeigt, eine mindestens 10-fache Verstärkung, welche der im Hauptversuch vorgenommenen Bemessung der Seifendosen zugrunde gelegt wurde. Das Gesamtergebnis zeigt Tabelle XII.

Tabelle XII.
I. Vorversuch.

Mengen des 1-proz. oleinsauren Natrons ccm	Hämolyse von 1 ccm Hammelblutaufschwemmung durch absteigende Mengen Seifenlösung (1,0 ccm Volumen) bei Zusatz von:	
	a 2 ccm NaCl-Lösung	b 1,0 ccm NaCl-Lösung + 1,0 ccm $\frac{1}{400}$ n-HCl
0,1	komplett	komplett
0,05	0	"
0,025	0	"
0,015	0	"
0,01	0	"
0,005	0	stark
0,0025	0	0

II. Hauptversuch.

Mengen des inaktiven Kaninchen- serums ccm	Hämolyse von Hammelblut durch ölsaures Natrium bei Zusatz von:		
	A Serum (große Seifendosis)	B Serum + HCl (große Seifendosis)	C Serum + HCl (kleine Seifendosis)
0,5	0	0	0
0,25	0	fast komplett	0
0,15	Spur	komplett	0
0,1	komplett	"	0
0,05	"	"	0
0,025	"	"	fast komplett
0,015	"	"	komplett

Wenn man in der vorstehenden Tabelle die Reihen A und B miteinander vergleicht, so scheint eine Aktivierung des unwirksamen Gemisches von Seife und Kaninchenserum (bei den Mengen 0,25—0,15 ccm Serum) vorzuliegen, in vollkommener Uebereinstimmung mit den durch v. Liebermann und v. Fenyvessy erhobenen Versuchsbefunden. Bei Berücksichtigung der die Seifenhämolyse verstärkenden Wirkung der Säure und bei entsprechender Reduktion der Seifendosis auf die bei Säurezusatz hämolytisch äquivalente Menge (Kolumne C der Tabelle) zeigt sich aber, daß es nicht angängig erscheint, hier eine Folgerung im Sinne der genannten Autoren zu ziehen und in dem sich in Kolumne A und B dokumentierendem Resultat ein Analogon für die Wirkung hämolytischer Sera zu erblicken. Es verdient vielleicht dabei besonders bemerkt zu werden, daß die hemmende Wirkung des Kaninchensersums gegenüber der geringen Seifendose bei Säurezusatz eine viel stärkere ist, als gegenüber der größeren Seifenmenge ohne Säurezusatz, obwohl es sich in beiden Fällen gewissermaßen um hämolytische Äquivalente handelt. Es ergibt sich hieraus, daß unter geeigneten Bedingungen die Seife durch das Serum fest gebunden wird und dann nicht mehr durch den Säurezusatz zur hämolytischen Funktion gelangen kann. In gleicher Weise zeigt auch Kolumne B der Tabelle, daß bereits ein relativ geringer Ueberschuß von Serum auch bei großen Seifendosen die aktivierende Wirkung der Säure vereitelt, und es dürften hierbei vielleicht die durch v. Liebermann und v. Fenyvessy festgestellten interessanten Beobachtungen in Betracht kommen, nach denen zwar Serumbestandteile, wie die Kalksalze und das Cholesterin, Seifenlösungen derartig inaktivieren, daß durch Borsäurezusatz die hämolytische Wirkung restituiert werden kann, die Inaktivierung durch Serumalbumin aber die Wiederherstellung der hämolytischen Funktion durch Borsäure nicht mehr gestattet. Analoge Resultate, wie die obigen, wurden übrigens von uns auch bei Ersatz des oleinsauren Natriums durch Oleinsäure erzielt.

Nach alledem dürften auch die neuerdings von v. Liebermann und v. Fenyvessy herangezogenen Beispiele gegenseitiger Aktivierung hämolytisch unwirksamer Stoffe als Analoga

im Sinne der Ambozeptorkomplementwirkung schwerlich befriedigen können. Auch das Ergebnis des Trennungsversuches erscheint nicht genügend beweiskräftig, wenn man die verstärkende Wirkung der Säure auf die Hämolyse durch Lipide und vielleicht auch den besonders durch die Untersuchungen v. Liebermanns (l. c.), v. Dungerns und Cocas (l. c.) und F. Sachs' (l. c.) bekannten Umstand berücksichtigt, daß der sukzessive Zusatz von Seife oder Oelsäure einerseits, von Serum andererseits zu Ergebnissen führen kann, welche sich von den beim Mischen der Komponenten wahrzunehmenden Phänomenen erheblich unterscheiden können.

Auch die Inaktivierung der von v. Liebermann und v. Fenyvessy benutzten, aus Seife, Serumalbumin und Säure bestehenden künstlichen Immunsera durch Erhitzen wird man nicht ohne weiteres als eine Analogie zu der Inaktivierung der natürlichen Immunsera ansehen dürfen; denn wir wissen bereits aus Untersuchungen von Landsteiner und Ehrlich¹⁾, Bauer, sowie M. Friedemann und F. Sachs u. a., daß Gemische von Lipoiden und Serum durch Erhitzen in ihrer Wirkung ganz erheblich geschädigt werden können, wenn auch in den Versuchen der letzteren Autoren die hierzu erforderliche Temperatur 70° betrug. Nach einigen von mir erhobenen Befunden war eine Inaktivierung gewisser Gemische von Seife und Serum auch bereits bei niedrigeren Temperaturen zu bemerken, und das Versuchsbeispiel, das ich in dieser Hinsicht folgen lasse, ist vielleicht auch deshalb von einigem Interesse, weil es gleichzeitig über das Verhalten des unerhitzten und des erhitzten Serums gegenüber der Seifenhämolyse Auskunft gibt.

Es wurden 3 Doppelreihen ausgeführt. In den Reihen A wurden je 0,1 ccm 1-proz. Seifenlösung mit absteigenden Mengen Rinderserums gemischt; das Rinderserum wurde verwendet:

- in Reihe A₁ in nativem Zustande,
- in Reihe A₂ nach 1/2-stündigem Erhitzen auf 55°,
- in Reihe A₃ nach 1/2-stündigem Erhitzen auf 60°.

In den Reihen B wurden absteigende Mengen aktiven Rinderserums mit je 0,1 ccm einer 1-proz. Seifenlösung gemischt. Während die Reihe

1) K. Landsteiner und H. Ehrlich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 1907, p. 148.

B₁ 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, wurden die Röhrchen der Reihe B₂ 1/2 Stunde auf 55°, diejenigen der Reihe B₃ auf 60° 1/2 Stunde erhitzt; sodann erfolgte überall Zusatz von je 1 ccm Rinderblutaufschwemmung bei einem Gesamtvolumen von 2,1 ccm. Das Ergebnis zeigt Tabelle XIII.

Tabelle XIII.

Mengen des Rinder- serums ccm	Hämolyse von Rinderblut durch Seife nach Digerieren der letzteren mit absteigenden Mengen Rinderserums					
	A das Rinderserum war			B die Seife-Serumgemische wurden		
	A ₁ nicht erhitzt	A ₂ auf 55° erhitzt	A ₃ auf 60° erhitzt	B ₁ nicht erhitzt	B ₂ auf 55° erhitzt	B ₃ auf 60° erhitzt
0,15	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	Spürchen	0	0
0,05	komplett	0	0	komplett	0	0
0,025	„	komplett	fast kompl.	„	fast kompl.	Spur
0,015	„	„	komplett	„	komplett	fast kompl.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß in der Tat das auf 55 und 60° erhitzte Rinderserum die hämolytische Wirkung der Seifenlösung in erheblicherem Maße beeinträchtigt, als das native Serum, und es verdient vielleicht bemerkt zu werden, daß dies einem früher von Kyes und Sachs¹⁾ erhobenen Befunde entspricht, nach welchem Hämoglobininlösungen durch Erhitzen auf 62° befähigt werden, die Cobragift aktivierende Wirkung des Lecithins aufzuheben. Freilich zeigen die Reihen B der Tabelle, daß beim Erhitzen der Gemische von Seife und Serum auf entsprechende Temperaturen die hemmende Wirkung eine noch größere ist, was der von M. Friedemann und F. Sachs gezogenen Schlußfolgerung einer Verfestigung der Bindung zwischen Seife und Serum beim Erhitzen auf geeignete Temperatur entspricht. In der obigen Tabelle wird man freilich zu berücksichtigen haben, daß beim Erhitzen der Gemische das Serum in stärkerer Verdünnung vorhanden war, während bei der alleinigen Erhitzung des Serums das letztere unverdünnt zur Anwendung kam und erst nachher in absteigenden Mengen mit der Seife digeriert wurde. Ich bin jedoch den hier in Betracht kommenden

1) P. Kyes und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 24.

Erscheinungen nicht näher nachgegangen und habe den Versuch nur angeführt, weil er zeigt, daß unter geeigneten Bedingungen auch bei den der Inaktivierung der Komplemente entsprechenden Temperaturen eine gewisse Abschwächung von Seifen-Serumgemischen erzielt werden und auch das Serum an und für sich durch Erhitzen eine Steigerung seiner die Seifenhämolyse hemmenden Funktion erfahren kann¹⁾.

Was schließlich die Aktivierung der durch Erhitzen inaktivierten künstlichen Immunsera v. Liebermanns und v. Fenyvessys durch das als künstliches Komplement fungierende Seifen-Eiweißgemisch anlangt, so bieten sich auch hier theoretische Grundlagen zu einer Erklärung im Sinne der reinen Lipoidhämolyse, wenn man bedenkt, daß ja der Säuregehalt des inaktivierten künstlichen Immunserums noch zum Hervorrufen der hämolytischen Eigenschaften der im künstlichen Komplement enthaltenen Seife ausreichen könnte. Nach unseren Ausführungen liegt hierbei eben kein zwingender Grund vor, an eine „Aktivierung“ der unwirksamen Seifen-Eiweißgemische zu denken, vielmehr dürfte es hinreichen, das Phänomen der Verstärkung der Seifenhämolyse durch Säure hierfür verantwortlich zu machen.

Nach alledem scheinen uns vorläufig die zahlreichen Untersuchungen über die Hämolyse durch Lipoidе keineswegs dazu zu berechtigen, Schlußfolgerungen auf die Natur der bei der Serumhämolyse wirksamen Stoffe zu ziehen, ein Ergebnis, zu dem auch neuerdings Liefmann und Cohn²⁾ auf Grund zahlreicher Experimente gelangten. Ich habe mich auch in zahlreichen Varianten bemüht, eine Aktivierung auf immunisatorische Weise gewonnener Ambozeptoren durch Seifen- oder Seifen-Serumgemische zu erzielen, jedoch ist mir dies in Bestätigung der Angaben Heckers³⁾ und zahlreicher

1) Nach Liefmann und Cohn (l. c.) erwirbt auch Globulin durch Erhitzen auf 60° die Oelsäurehämolyse hemmende Eigenschaften.

2) H. Liefmann und M. Cohn, Diese Zeitschr., Bd. 6, 1910, p. 88.

3) R. Hecker, Arbeiten aus dem Institut für experim. Therapie zu Frankfurt, 1907, Heft 3.

anderer Autoren¹⁾ und im Gegensatz zu der Auffassung Noguchis²⁾ und v. Liebermanns (l. c.) niemals gelungen. Es erwies sich dabei auch hier in Uebereinstimmung mit der zuerst von Hecker mitgeteilten Beobachtung sensibilisiertes Blut gegenüber der Hämolyse durch ölsaures Natrium, wie auch durch Oelsäure wenig resistenter als natives Blut. Von dem Gedanken ausgehend, daß vielleicht bei der hemmenden Wirkung der Natronlauge auf die Hämolyse durch Seife geeignete, an und für sich wenig oder nicht wirksame Gemische von Seife und Natronlauge eine hämolytische Wirkung gegenüber sensibilisiertem Blut ausüben könnten, habe ich Versuche in dieser Richtung angestellt, konnte aber weder bei Verwendung von Seife, noch bei Benutzung von Oelsäure Unterschiede konstatieren. Ebenso wenig habe ich bei der Prüfung von Seifen-Serumgemischen unter Salzsäurezusatz gegenüber sensibilisierten und nativem Blute Differenzen beobachten können. Ferner habe ich Normalhämolysine in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen, aber auch hierbei konnte eine Aktivierung von Normalambozeptoren durch Seife oder Seifen-Serumgemische nicht beobachtet werden. Es verdient vielleicht hervorgehoben zu werden, daß auch bei den normalen Hämolysinen nicht nur das Serum die Seifenhämolyse verhinderte, sondern die Seifenlösung auch eine Inaktivierung des Serumhämolysins verursachte (es handelte sich hier um das System Meerschweinchenblut-Rinder Serum). Endlich suchte ich festzustellen, ob man nicht komplettierendes Meerschweinchen Serum, das auf andere Art als durch thermische Einflüsse inaktiviert war, durch geeigneten Seifenzusatz wieder wirksam machen könnte. Ich inaktivierte daher Meerschweinchen Serum nach dem Vorgang von Sachs und Teruuchi durch Verdünnen mit destilliertem Wasser, konnte aber durch Zusatz von Seife oder Oelsäure eine Verstärkung im Sinne der Hämolyse sensibilisierten Blutes nicht auffinden.

1) Cf. hierzu: v. Dungern und Coca (l. c.); Friedemann und Sachs (l. c.); weitere Literatur bei Liefmann und Cohn (l. c.).

2) H. Noguchi, Biochem. Zeitschr., Bd. 6, 1907, p. 327.

Zusammenfassung.

1) Durch das Zusammenwirken nicht lösender Dosen von Salzsäure und alkoholischen Organextrakten entstehen starke hämolytische Effekte. Die hämolytische Wirkung der Organextrakte wird durch Alkali gehemmt. Jedoch wird bei größeren Natronlaugenmengen durch Zusatz von Organextrakt eine Verstärkung der hämolytischen Wirkung bedingt.

2) Für das Zusammenwirken von Salzsäure und Natronlauge einerseits, oleinsaurem Natrium und Oleinsäure andererseits bei der Hämolyse wurden dieselben Beziehungen wie bei Verwendung der Organextrakte festgestellt.

3) Auch durch das Zusammenwirken nichtlösender Dosen von Seife und Oleinsäure kann komplette Hämolyse erzielt werden, und zwar scheint es sich auch hierbei um eine wirkliche Verstärkung und nicht nur um eine Additionswirkung zu handeln.

4) Der Ersatz der Oleinsäure durch andere Säuren bei der Aktivierung hämolytisch unwirksamer Gemische von Seife und Serum dürfte daher im Sinne der Analogisierung derartiger Phänomene mit der Ambozeptor-Komplementwirkung nicht befriedigen.

5) Durch Erhitzen von Rinderserum konnte dessen, die Seifenhämolyse hemmende, Funktion gesteigert werden, wenn auch das Erhitzen der Seifen-Serungemische eine stärkere Reduktion ihrer hämolytischen Wirkung bewirkte.

6) Eine Reihe von Versuchen, hämolytische Ambozeptoren durch Seifen oder Seifen-Serungemische zu aktivieren, vermochten eine Stütze für die Auffassung der Komplemente als seifenartige Verbindungen nicht zu erbringen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter.]

„Ueber Anaphylaxie.“

XI. Mitteilung.

Das Verhalten von Puls und Atmung bei der Anaphylaxie des Kaninchens ¹⁾.

Von **E. Friedberger** und **A. Gröber**.

Mit 7 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Februar 1911.)

Wenn auch die Untersuchungen über die Ueberempfindlichkeit bis zu einem gewissen Grade eine Klärung über das Wesen des anaphylaktischen Prozesses gebracht haben, so bestehen andererseits über den feineren Mechanismus der Anaphylatoxinwirkung noch vielfach völlige Unklarheiten.

Die Untersuchung mit den physiologischen Registriermethoden hat zwar eine ganze Reihe von interessanten Tatsachen zutage gefördert. Doch stand einer einheitlichen Deutung der Analyse des Wirkungsmechanismus des Anaphylatoxins vor allem der Umstand hindernd entgegen, daß scheinbar bei den einzelnen Tierspecies das Gift ganz verschiedene Angriffsstellen zu haben schien und verschiedene Symptome hervorrief.

Aus den Untersuchungen von Biedl und Kraus, Arthus, Abelous und Bardier, Achard und Aynaud, Manwaring, Nolf wissen wir, daß beim Hund eine Blutdrucksenkung im Vordergrund, des Symptomenbildes steht. (Die Dyspnoe, die nach anderen Angaben fehlen soll, haben wir gleichwohl in einer Reihe von Versuchen gesehen.) Beim Meerschweinchen hinwiederum ist, wie Gay und Southard,

1) Die Resultate unserer Versuche sind vorgetragen und die Kurven demonstriert auf dem Mikrobiologentag in Berlin Mai 1910 (vergl. Centralbl. f. Bakt., Referate, Bd. 47, Beiheft). Einige Kurven wurden schon in einer Arbeit von Friedberger und Hartoch (diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 6) und von Friedberger (ibid., Heft 7) veröffentlicht.

Auer und Lewis gezeigt haben, das Hauptsymptom eine Asphyxie, begleitet von einer Blutdruckerhöhung, die erst allmählich in eine Senkung übergeht. Das Kaninchen wiederum zeigt nach den von Friedberger-Hartoch und Friedberger bereits 1909 veröffentlichten Kurven, vor allem aber nach den von uns auf dem Mikrobiologentag vorgeführten Kurven¹⁾ zunächst eine Blutdrucksenkung wie der Hund, dann bei genügend intensiver Vergiftung auch Atemstillstand nach einigen krampfhaften Inspirationen wie das Meerschweinchen²⁾. Beim Frosch fällt naturgemäß eine Einwirkung auf die Atmung von vornherein nicht ins Gewicht. Dagegen zeigt sich nach den Untersuchungen von Friedberger und Mita eine starke Beeinflussung des Herzens³⁾, Verstärkung der Diastole auf Kosten der Systole und schließlich diastolischer Ventrikellstillstand (vorgetragen auf der Naturforscherversammlung in Königsberg, September 1910).

Beim Hund beruht die Blutdrucksenkung nach Biedl und Kraus auf einer Lähmung des peripheren vasomotorischen Apparates (Wirkungslosigkeit des Adrenalins, Drucksteigerung durch Chlorbarium, das nach Boehm auf die glatte Gefäßmuskulatur wirkt).

Beim Meerschweinchen soll nach Auer und Lewis die Asphyxie durch einen peripher bedingten Krampf der Bronchialmuskeln entstehen (geschlossen aus der Beeinflußbarkeit durch Atropin).

Biedl und Kraus wollen die „völlig differente, ja entgegengesetzte Einwirkung der anaphylaktischen Reinjektion auf anscheinend dieselben Gewebselemente, nämlich die glatte

1) Auer, der soeben im Centralblatt für Physiologie über seine Versuche an Kaninchen berichtet, scheinen diese Publikationen unbekannt zu sein.

2) Dies gilt für den absoluten Atemstillstand! Diesem geht auch beim Kaninchen stets Blutdrucksenkung voraus, wenn auch das Herz nach erfolgtem Atemstillstand noch weiter schlägt. Im Gegentathe hierzu gehen die ersten, leichten Veränderungen der Atmung allerdings, wie die nachfolgend publizierten Versuche zeigen, der Blutdrucksenkung voraus; doch sehen wir eine ausgesprochene Drucksenkung schon zu einer Zeit, wo dieselbe durch Atemstörungen allein nicht erklärt werden kann.

3) Versuche am Tier und am überlebenden Froschherzen nach der Methode von Straub.

Muskulatur“, damit erklären, „daß sich die antagonistische Wirkung des Giftes in beiden Fällen auf verschiedene Innervationsgebiete erstreckt“. Beim Hund soll es sich um die sympathisch innervierte Gefäßmuskulatur handeln, beim Meerschweinchen um die autonom innervierten glatten Muskeln der Bronchien.

Ist es aber wirklich erforderlich, ein derartig verschiedenes Verhalten zweier differenter Tierspecies gegenüber ein und demselben Gift anzunehmen, oder erklären sich die scheinbaren Gegensätze nicht ganz einfach und zwanglos durch rein quantitative Unterschiede in der Wirkung des qualitativ einheitlich wirkenden Giftes bei den verschiedenen Tierspecies? Im Gegensatz zu dem Verhalten organischer und anorganischer Gifte den verschiedenen Organismen gegenüber haben wir ja bei dem Gifte bei der Anaphylaxie noch weit kompliziertere Verhältnisse.

Wir können nicht nur an sich eine verschiedene Empfänglichkeit für das Anaphylatoxin haben, sondern es besteht noch die Möglichkeit, daß eine Tierspecies, gegenüber dem fertig gebildeten Anaphylatoxin hochempfindlich, doch nur schwache Vergiftungserscheinungen im anaphylaktischen Versuch aufweist, weil bei ihr die Anaphylatoxinbildung, z. B. infolge von Komplementmangel, eine ungenügende ist. Umgekehrt kann bei einer Tierspecies die an sich geringe Empfänglichkeit paralytisch werden durch das Vermögen einer besonders intensiven Giftabspaltung aus dem Eiweiß des Reinjektionsserums. Dadurch werden natürlich die Differenzen, die schon im Verhalten gegenüber primär giftigen Körpern bei den einzelnen Tierspecies bestehen, für die anaphylaktische Vergiftung vermehrt, indem zu dem variablen Faktor der Empfänglichkeit auch noch der variable Faktor der Giftbildung hinzutritt.

Vor allem dürfte für letzteren Faktor der Komplementgehalt eine wesentliche Rolle spielen und vielleicht beruht auf dem hohen Gehalt des Meerschweinchenserums an diesem Bestandteil (der ja diese Tierart zum ausschließlichen Komplementlieferanten in unseren Laboratoriumsversuchen gemacht hat) die Tatsache, daß das Meerschweinchen so geeignet für Anaphylaxieversuche ist.

Durch künstliche Komplementverarmung resp. Ausschaltung des Komplementes müßte man dann eine Verminderung der Empfindlichkeit gegenüber der Reinjektion erhalten. Das ist tatsächlich Friedberger und Hartoch sowie Loeffler jr. gelungen.

Auch die Verminderung der Empfänglichkeit durch Ausschaltung der Leber (Manwaring, Nolf) ist vielleicht an Stelle der Annahme komplizierter Prozesse in der Leber selbst einfach dadurch zu erklären, daß das Komplement abnimmt. Wissen wir doch, daß die Leber offenbar für den Komplementgehalt der Sera von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Nach Ehrlich und Morgenroth geht mit der Leberdegeneration bei der Phosphorvergiftung eine Komplementverarmung des Blutes einher. Friedberger und Seelig konnten beim Frosch durch Exstirpation der Leber das Hämolyisin völlig zum Schwinden bringen. So dürfte auch bei den Hunden in den Versuchen von Manwaring möglicherweise nur auf die Komplementverarmung der schützende Einfluß der Leberausschaltung zurückzuführen sein.

Infolge dieser komplizierten Verhältnisse bei der Anaphylatoxinbildung wird es verständlich, daß eine exakte Dosierung des anaphylaktischen Giftes zu vergleichenden Versuchen bei verschiedenen Tierarten bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung (Reinjektion) zur Erzielung der aktiven und passiven Anaphylaxie ausgeschlossen ist, und daß dadurch Differenzen im Symptomenbild zustande kommen, die leicht eine prinzipiell verschiedene Wirkungsweise des Giftes da vortäuschen, wo nur rein quantitative Unterschiede bestehen.

Wenn wir die 4 Tierspecies, bei denen seither die weitere Analyse der anaphylaktischen Symptome vorgenommen worden ist, den Hund, die Katze, das Kaninchen und das Meerschweinchen, bezüglich ihres Verhaltens bei der Anaphylaxie vergleichen, so haben wir eine Empfänglichkeitsskala, an deren einem Ende der Hund und die Katze stehen, bei denen zwar anaphylaktische Symptome, aber bisher nie der Tod auszulösen war. Am anderen Ende steht das Meerschweinchen, bekanntlich die zur Anaphylaxie am meisten neigende Tierspecies, die wir kennen. In der Mitte steht das Kaninchen, bei dem der anaphylaktische Tod bei geeigneter Präparierung

und Reinjektion zwar häufig, aber doch nicht so regelmäßig wie beim Meerschweinchen erfolgt.

Ob dabei das jederzeit zu konstatierende differente Verhalten der 4 Tierspecies gegenüber der Reinjektion auf einer verschiedenen Empfänglichkeit gegenüber dem Anaphylatoxin oder auf einer verschiedenen Intensität bzw. Geschwindigkeit der Giftbildung beruht, müssen wir offen lassen und das so lange, als wir das Anaphylatoxin nicht rein vom Komplementserum getrennt dargestellt haben. Aber einerlei, worauf die verschiedene Empfindlichkeit beruht, jedenfalls erklärt sie uns hinlänglich die Symptomendifferenz, auch ohne daß wir eine verschiedene Angriffsweise des Giftes, z. B. beim Hund und Meerschweinchen, anzunehmen brauchen.

Wenn wir z. B., natürlich immer bei gleicher Applikationsweise (intravenös), bei der unempfindlichsten der untersuchten Tierspecies nur Blutdrucksenkung sehen, keine Dyspnoe (oder, nach eigenen Untersuchungen, nur eine mäßige, nicht tödliche), bei der empfindlichsten nur Dyspnoe und sogar Blutdrucksteigerung, bei den Kaninchen mit mittlerer Empfänglichkeit aber ein Verhalten, das in der Mitte zwischen diesen beiden Extremen steht, so kann das sehr wohl darauf beruhen, daß die Wirkung des Giftes zunächst nur auf einer Gefäßdilatation beruht, wie sie beim Hunde am reinsten in Erscheinung tritt und daß erst entsprechende größere Giftdosen, wie sie sich beim Kaninchen häufig, beim Meerschweinchen immer bilden, auf die Respiration wirken. Die anfängliche Blutdrucksteigerung beim Meerschweinchen erklärt sich dann ungezwungen aus dem infolge der stärkeren Vergiftung frühzeitigeren Auftreten der Erstickungssymptome, während beim Hund, bei dem es überhaupt mangels einer intensiven Vergiftung kaum zur Ausbildung einer stärkeren Dyspnoe kommt, die Blutdrucksenkung sich ungestört entwickeln kann. Dann hätten wir also bei allen Tierspecies einheitlich zunächst die Wirkung auf die Gefäße. Daß diese Auffassung nicht unberechtigt ist, zeigen besonders die Versuche von H. Pfeiffer, der bereits auf Grund seiner Erfahrungen bei der protrahierten Vergiftung von Meerschweinchen, wie sie die intraperitoneale Reinjektion zur Folge hat, zur Ablehnung der Anschauung einer verschiedenen Wirkungsweise des Anaphylaxiegiftes beim Hund und Meerschweinchen

kam. Er konnte zeigen, daß, wenn man die anaphylaktische Vergiftung beim Meerschweinchen durch intraperitoneale Reinjektion weniger intensiv gestaltet, die Symptome etwa die gleichen sind, wie sie der weniger empfindliche Hund bei intravenöser Reinjektion zeigt. Vor allem erscheint bemerkenswert, daß, wenn der Tod schließlich doch bei einem protrahierten Krankheitsverlauf eintrat, keine Lungenblähung zu konstatieren war.

Daß aber die Asphyxie auch beim akuten Tod keineswegs die einzige Ursache zu sein braucht, das zeigen neuere Versuche von Friedberger und Mita, in denen unter dem Einfluß von prophylaktischen Atropingaben nach Auer und Lewis die Lungenblähung zwar verhütet wurde, aber die Tiere ohne Erstickungskrämpfe gleichwohl akut eingingen. Hier kann man also nicht den Krampf der Bronchialmuskeln für die Todesursache bei der akuten Meerschweinchenanaphylaxie ansehen.

Die vorstehenden Ausführungen sollen zeigen, daß die Annahme einer verschiedenen Angriffsweise des Anaphylaxiegiftes nicht erforderlich ist, und die Auffassung einer einheitlichen Wirkung eines einheitlich wirkenden Giftes bei den verschiedenen Tierspecies trotz der Verschiedenheit der Symptome sich rechtfertigen läßt. Wenn wir im nachstehenden nunmehr unsere Versuche über das Verhalten von Blutdruck und Atmung bei der aktiven Anaphylaxie des Kaninchens veröffentlichen, so geschieht es, weil gerade das Verhalten einer in seiner Empfindlichkeit zwischen den seither untersuchten Tierspecies stehenden Tierart am ehesten geeignet ist, die im Verhalten von Hund und Meerschweinchen scheinbar bestehenden Gegensätze aufzuklären. Unsere Versuche sind bereits vor nunmehr über einem Jahr angestellt und zum Teil in dieser Zeitschrift mitgeteilt. Die ausführliche Veröffentlichung hat sich aus äußeren Gründen verzögert.

Wir benutzten für die Versuche ausschließlich mit Hammelserum sensibilisierte Kaninchen. Die Reinjektion erfolgte intravenös mit auf Körpertemperatur erwärmtem Serum, am gefesselten Tier, meist in die Vena jugularis. Der Blutdruck wurde aus der Carotis, die Atmung aus der Trachea am Straubschen Kymographion geschrieben.

Wir kommen nun zur Besprechung unserer Versuche. Die Darstellung wird in der Weise geschehen, daß die Wirkung der Reinjektion auf die einzelnen großen Funktionsgebiete des Organismus gesondert besprochen wird, d. h. die Einwirkung der Reinjektion auf das Zirkulationssystem, die Wirkung auf das Respirationssystem usw. werden, soweit es überhaupt möglich ist, voneinander getrennt behandelt werden, da sich auf diese Weise leichter ein klarer Einblick in den Wirkungsmechanismus gewinnen läßt, als wenn alle Funktionsgebiete gleichzeitig abgehandelt würden.

An die Spitze unserer Versuche stellen wir einen Kontrollversuch mit einem nicht vorbehandelten Tier. Er zeigt, daß es nicht etwa die primäre Serumgiftigkeit ist, welche die in unseren übrigen Versuchen beobachteten Erscheinungen zeitigt.

Die Ergebnisse unserer Versuche, wie sie sich in den gewonnenen Kurven finden, sind der besseren Uebersicht wegen — nach Ausmessung der Kurven — in Tabellenform wiedergegeben worden. Besonders charakteristische Kurvenstücke sind auf den beigegebenen Tafeln direkt wiedergegeben worden, als Belege für unsere Behauptungen.

Verhalten der Atmung.

A. Normaltier.

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
2) 18. VI./N., 1,15 kg, Hammelserum, 4,6 ccm in toto. Vor dem Versuch Atmung: 44 pro Min., Höhe durchschnittlich 4 mm, nach einer Unruhe des Tieres Frequenz 64 pro Min., Höhe 5 mm.	vor der Reinj. nach d. Reinj. 22"—52"	4—5 mm unverändert	44—64 48	Blutdruck 85 mm Hg im Mittel, Puls 236. Blutdruck steigt allmählich leicht an (nach 4 Min. 92—95 mm). Puls 232.
	4' 10" 4' 4' 40" nach der II. Injektion 10" 40"	5—6 mm 7 " 7 "	38 51 46	Zweite Injektion Hammelserum, Dosis wie bei der ersten, am Ende der Injektion mittlerer Blutdruck 90 mm. Blutdruck 77 mm, Puls 228. Mittlerer Blutdruck 87 mm, Puls 230.

Blutdruck, Puls und Atmung bleiben in der nächsten Zeit völlig unverändert.

Lide. No., Datum, Tiergewicht in kg. Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Blutdruck u. Puls vor der Reinjektion, Dauer der Re- injektion	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Mittlerer Blut- druck in mm Hg, vor und während dem Versuche	Pulsfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
2) 18. VI. / N., 1,15 kg, Hammelserum, 4,0 ccm pro kg = 4,6 ccm. Vor dem Ver- suche Blutdruck: 85 mm Hg, Puls: 236 pro Minute.	vor der Inj.: nach der Inj.: 22" 52" 4' 4' 40" 2. Inj. a. Ende dieser: nach d. 2. Inj.: 5" 10" 20" 40"	85 85 85 92—95 90 sinkt etwas 77 steigt 87	236 236 240 232 228 230	Blutdruck zeigt in den ersten 22 bis 52 Sek. nach der Injektion keine Ver- änderung, weder Steigen noch Fallen. Nach 4 Min. post injectionem sogar leichter Druckanstieg von 85 mm Hg auf 92—95 mm Hg. 4' 40" nach der ersten Injektion erfolgt die zweite Injektion, Dosis wie bei der ersten: 4,0 ccm pro kg = 4,6 ccm in toto. Am Ende der Injektion Blut- druck: 90 mm Hg. Blutdruck bleibt nun dauernd konstant auf der gleichen Höhe. Versuch ab- gebrochen.

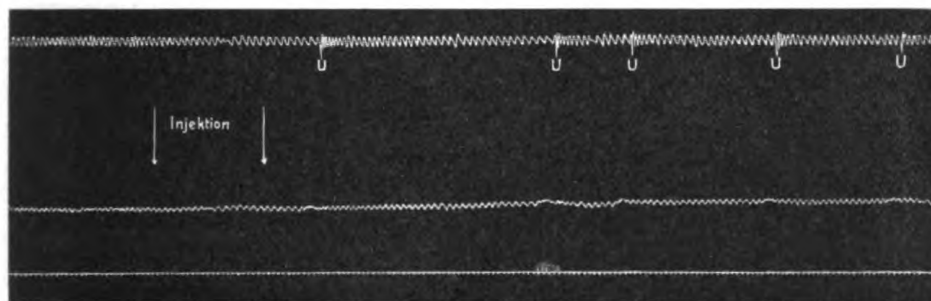


Fig. 1. Kaninchen No. 2, Kontrolle.

In den zur Anwendung gelangten Dosen wirkt also das Hammelserum beim normalen Tier nicht toxisch. Bei Verwendung größerer Dosen hat allerdings O. Weiß bereits 1897 (Pflügers Archiv, Bd. 65) Veränderungen von Puls und Atmung gesehen, wie wir sie im Nachstehenden bei präparierten Tieren auch durch kleinere Dosen erzielen konnten.

B. Präparierte Tiere.

Wie aus nachstehenden Versuchen klar hervorgeht, ist nicht die Blutdrucksenkung die primäre Erscheinung, sondern die Veränderung der Atmung, doch ist die Blutdrucksenkung keines-

wegs prä mortal, wie das Biedl und Kraus behaupten, sondern schon deutlich ausgesprochen lange Zeit vor dem Atemstillstand. Es erfolgt in der Mehrzahl der Fälle als erstes Zeichen des beginnenden Shocks ein Tieferwerden der Atmung, während der Blutdruck seine alte Höhe beibehält, in einigen Fällen vielleicht auch etwas ansteigt. Später, teils vor, teils nach Beginn der konsekutiven Blutdrucksenkung erfolgen dann weitere Veränderungen der Atmung. Besonders charakteristisch scheint für die Anaphylaxie des Kaninchens eine gewisse Periodizität der Atmung zu sein, derart, daß von tiefen Atemzügen ausgehend, die Atmung immer flacher und flacher wird, danach die Höhe der Exkursionen wieder zunimmt, worauf eine neue Abnahme, eventuell wieder von einer Zunahme gefolgt, stattfindet. Dieses Spiel kann sich am selben Tier, im selben Versuche vielfach wiederholen und die Berge dieser Wellen, die tiefen Atemzüge, sind dabei nicht selten krampfhafter Natur. Enorme stoßende Expirationen wechseln mit meist kleineren, zuweilen jedoch auch ebenso großen Inspirationen. Die Täler der Perioden zeigen im allgemeinen ruhigeren Verlauf. Dabei gilt im allgemeinen die Regel, daß, je größer die Atemexkursionen, um so geringer die Frequenz ist und umgekehrt. Das völlige Sistieren der Atmung ist in seinem zeitlichen Eintritt weder an die Berge noch die Täler der Wellen gebunden, es kann scheinbar in jedem Teile der Kurve eintreten.

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
6) 22. VII./48, 1,52 kg, Hammelserum, 3,0 ccm pro kg = 4,5 ccm. Vor dem Versuche: Atmung: Frequenz: 38 pro Min., unmittelbar vorher in Folge Unruhe des Tieres 51 pro Min., Höhe 5—6 mm.	vor der Reinj. nach d. Reinj. 20" 30" 1' 1'—1'12"	5—6 mm 8 " 2 " 3 1/2 " 1—5 " ausgesprochene Vaguspulse. 5—1 mm	38—51 53	Blutdruck vor dem Versuch 105 mm Hg im Mittel. Unmittelbar post inj. Blutdruck 113 mm Hg, 20" post inj. Blutdruck 100 mm Hg. (Puls vor der Reinj. 222 pro Min., 20" post inj. 216 pro Min. Blutdruck schwankt bei Tendenz zum Sinken von 102 mm Hg auf 64 mm Hg. 30"—1' deutliche Vaguspulse. Atropin. sulf. 0,03 g = 20 mg pro kg. Keine Vaguspulse mehr. Blutdruck fällt von 94 auf 50 mm Hg im Mittel.

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc., vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
6) Fortsetzung.	1' 12" — 1' 42"		sehr frequent!	Blutdruck sinkt von 50 mm Hg im Mittel auf 24 mm Hg. Pulse irregulär.
	1' 42" — 2' 12"	0	krampfartig, zu- weilen fast ganz unterbrochen. sistiert völlig.	Künstliche Atmung eingeleitet. Blut- druck sinkt von 24 auf 14 mm Hg, Puls 64 pro Min.
	2' 12" — 2' 32"	0	0	Beide Nervi vagi durchschnitten: Kein wesentlicher Erfolg, kein Anstieg des Blutdruckes. Pulse werden zunächst etwas größer, hören dann aber bald ganz auf: Exitus letalis.

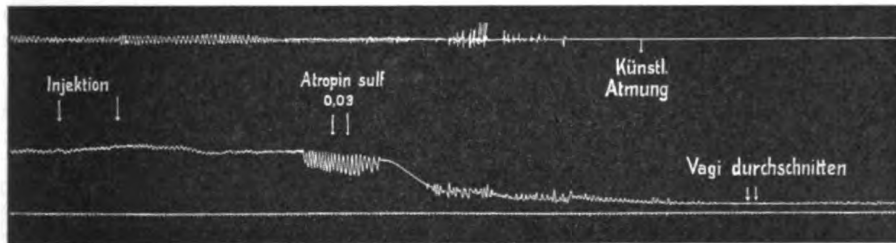


Fig. 2. Kaninchen No. 6.

7) 22. VII./54., 1,57 kg, Hammelserum, 3,0 ccm pro kg = 4 3/4 ccm. Vor dem Vers.: Atmung: Frequenz: 53 pro Minute, Höhe schwankt leicht: 10 bis 7 mm. Injekt. dauert 17".	vor der Reinj. nach d. Reinj.	10—7 mm	52	In den ersten 10" post inj. steigt der Blutdruck von 100 mm Hg im Mittel vor dem Versuche auf 112 mm Hg. Vaguspulse! (110—66 mm Hg).
	10"	5—10 "	56	Ca. 45" post inj. Atropin. sulf. 0,03 g = 20 mg pro kg. Sogleich danach Aufhören der Vaguspulse.
	35"—1'	8 "	108	In dieser Periode steigt die Höhe der Atemexkursionen von 4 1/2 zunächst auf 9, dann auf die durch Krämpfe bedingte Höhe von 25 mm. Allmählich Beruhigung: reguläre Atmung, deren Höhe 13 mm ist. In den letzten 10" dieser Periode wird der Nervus vagus undurchschnitten faradisch gereizt. Weder das Herz, noch die Atmung werden dadurch in irgendeiner Weise beeinflusst; der Blutdruck bleibt gleich- falls unverändert!
	1'	14 "		
	1'—1 1/2'	4 1/2 "	102	
		25 "		
	1 1/2'	13 "	regulär	

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
7) Fortsetzung.	1 1/2'—2'	fällt plötzl. von ihrer vorig. Höhe auf 0	0	Puls irregulär. Blutdruck sinkt ganz plötzlich auf 38 mm Hg, die Atmung auf 0. Reizung des linken undurch- schnittenen Vagus ohne jeden Ein- fluß auf Atmung und Zirkulation.
	2'—2' 20"	noch immer = 0	0	Vaguspulse! Blutdruck 50—26 mm Hg. Puls 73 pro Min.
	2' 30"			Künstliche Atmung! Beide Nervi vagi durchschnitten. Blutdruck steigt nun langsam. Nach weiteren 30" 40, nach weiteren 60" 44 mm im Mittel, Puls 245 pro Min.
	3'	" " = 0	0	Blutdruck 54 mm Hg. Spontanatmung beginnt. Bald nach Einsetzen der Spontanatmung Aufhören der Atro- pinwirkung, wie sich bei Vagusreizung ergibt. Blutdruck 65 mm Hg, Puls 280 pro Min.
	4'	" " = 0	0	
	5 1/2'	17—18 mm	18 (regulär)	Blutdruck 75 mm, Puls 276 pro Min.
	6'	17—18 "	18	Blutdruck 85 mm, Puls 275 pro Min.
	7 1/4'	21 "	19	Schluß des Versuches wegen Gerinn- selbildung in der Carotiskanüle.
	9 1/4'	21 "	28	

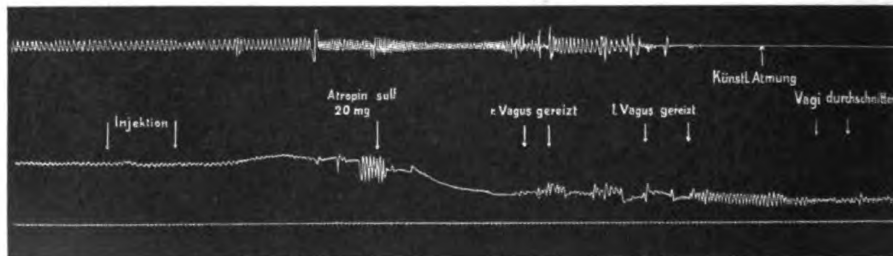


Fig. 3. Kaninchen No. 7.

17) 21. VII./49., 1,65 kg, Hammels., 3,0 ccm pro kg = 5,0 ccm. Vor d. Vers.: Atmung 150 pro Min., Höhe 7 mm, Blutdruck 88 bis 90 mm, Puls 240 pro Min., Injektionsdauer 11 Sek.	vor der Reinj. nach d. Reinj. 12 1/2" 18 1/2"	7 mm 7 1/2 " 8 " 6 1/2 "	150	Blutdruck 88—90 mm Hg, Puls 246.
	30" 40" 43—44" 1' 1' 10"	sinkt von jetzt an dauernd weiter 4 1/2 mm 3 " 1 1/2 " 1 " 1 "	188 192 150 120	Blutdruck 96 mm Hg. Blutdruck 108 mm Hg, Puls 244. " 114 mm Hg, Puls 194. " 120 mm Hg. " 93 mm Hg, Puls 124. Blutdruck 80 mm Hg, Vaguspulse seit 1' 13".

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj. Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
17) Fortsetzung.	1' 30"	1 mm	102	Blutdruck 92 mm Hg, Puls 78, noch immer Vaguspulse.
	1' 50"	1 „	96	Blutdruck 66 mm Hg, Puls 90, irregulär inäqual, keine Vaguspulse mehr, in den nun kommenden Sek. werden die Pulse so klein, daß ihre Exkursionen auf dem Papier unzahlbar werden.
	2' 16"	$\frac{1}{2}$ „	84	Blutdruck 54 mm Hg.
	2' 17 $\frac{1}{2}$ "	$\frac{1}{2}$ „	78	Beide Nervi vagi durchgeschnitten.
	2' 24"	$\frac{1}{2}$ „ steigt allmählich	fällt allmählich	Blutdruck 60 mm Hg, steigt noch etwas (Maximum nach 2' 32" mit 76 mm), danach konstantes Sinken.
	2' 33"	9 mm nimmt von jetzt an wieder ab	30	Blutdruck 58 mm Hg.
	2' 40"		steigt v. jetzt an	
	2' 50"		42	Blutdruck 56 mm Hg.
	3' 2"	2 mm sistiert völlig 0	0	Blutdruck 36 mm. Pulse nicht mehr unterscheidbar, künstliche Atmung, der Blutdruck sinkt konstant weiter, erreicht 4' 50" p. i. 0.

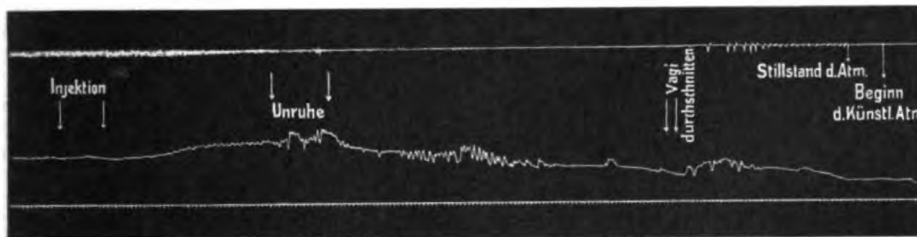


Fig. 4. Kaninchen No. 17.

18) 29. VI./H., 1,43 kg, Hammelserum	vor der Reinj.	ca. 6 mm	74	Blutdruck ca. 84 im Mittel.
2,0 ccm pro kg =	nach d. Reinj.			
3,0 ccm, 2mal vor-	17"			Blutdruck beginnt rapide zu sinken.
behandelt am 15.	0—9"	6 $\frac{1}{2}$ mm	72	
V. u. 20. VI. Vor	9"	7 $\frac{1}{2}$ „	66	Blutdruck 86—88 mm Hg.
dem Versuch: At-	9—20"	7 $\frac{1}{2}$ „	66	Puls 216, 20" p. inj. Blutdruck 70 mm Hg.
mung 74 pro Min.	20—24"	7—7 $\frac{1}{2}$ mm		Blutdruck sinkt weiter.
ca. 6 mm Höhe,	24"	6 $\frac{1}{2}$ mm		
Dauer der Injek-	25"	fällt von jetzt an wird kleiner (4 $\frac{1}{2}$ —5)		
tion 17 Sek.	27"—28"	4 mm	102	„ 63 mm.

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
18) Fortsetzung.	32" 33" 34" 38–45" 31"	1 1/2 mm 20 " 1 " 5–6 mm 1 1/2 "	56	Blutdruck 56 mm. Blutdruck 45", nach der Inj. 40 mm. Nach diesem tiefstem Stande der Atemhöhe erfolgt eine schnelle Zunahme der Größe der einzelnen Atemexkursionen.
	35" 40" 45" folgende Sek. 50" während der folgenden Zeit Abnahme bis dann Zunahme nach 1 Min.	(darauf wieder schneller Fall) 1 mm 10 " während der folg. Sek. wird Höhe 6 mm 7–8 mm 6 " 12 " 5 1/2 " 15 "		Von jetzt an wieder Zunahme. Blutdruck fällt dauernd weiter, beträgt nach 1' 20 mm, nach 2' 6" 0, Puls 50" p. i. 100 pro Min. 1 1/2 Min. p. i. 66 pro Min. Die Atmung zeigt von der 24." an ausgeprägte Periodizität mit Bergen und Tälern der Kurve, eine Konstanz der Entfernungen der einzelnen Berggipfel oder Talniederungen voneinander läßt sich nicht feststellen, d. h. die Perioden sind sehr ungleich lang, die erste erstreckt sich von Tal zu Tal, von der 31. bis zur 34. Sek., die zweite von der 34. zur 42. und sofort.

Besonders bemerkenswert erscheint, daß eine Veränderung der Atemkurve, und zwar ein Tieferwerden der Atmung, das sich in einem Größerwerden der einzelnen Atemzüge auf der Kurve und einer gleichzeitigen Abnahme der Frequenz ausprägt, einsetzt, bevor die Blutdruckkurve, die für Anaphylaxie charakteristischen Merkmale, besonders die Blutdrucksenkung zeigt. Die Blutdrucksenkung fängt erst volle 8 Sek. nach der beschriebenen Veränderung der Atemkurve an. 1'5" p. i. sistiert die Atmung völlig, künstliche Atmung vermag das Tier nicht zu retten.

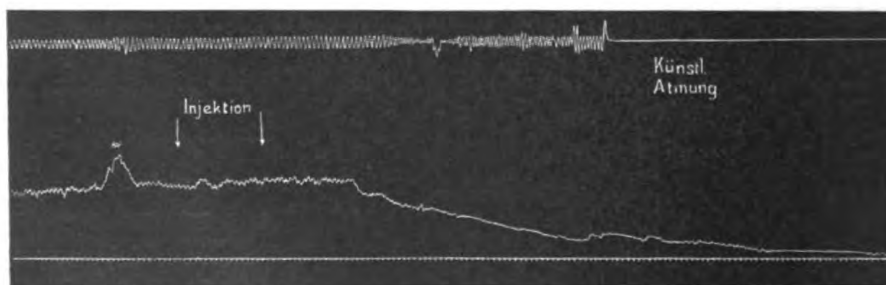


Fig. 5. Kaninchen No. 18.

Life. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj. Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
27) 23. VII./40. 1,26 kg Hammelserum, 3,0 ccm pro kg = 4 ccm. Vor dem Versuch Atmung 114 pro Min., Höhe 4–6 mm, Blut- druck 72 mm Hg, Puls ca. 280 pro Min.	vor der Reinj. sof. nach d. R. 10" 22" 29" 34–43" 40" 44" 51" 1' 4" 1' 6 1/2"	4–6 mm 4–5 " 5 " 4 " 4 1/2 " mit steig. Tend. 5–7 mm 6 " nimmt ab 0	114 102 114 114 114 114	Blutdruck 72 mm, Puls ca. 280. " sinkt: 68 mm. " 64 mm, Puls ca. 258. " 60 mm. " 39 mm, keine Pulse mehr erkennbar. Zwischen 36 und 40" werden beide Nervi vagi durchschnitten. Blutdruck 30 mm. Blutdruck 28 mm, keine Pulse mehr. Künstliche Atmung. Blutdruck 34 mm, sinkt jedoch 1' 10" p. i. wieder auf 30 mm, fällt dann kon- stant, beträgt bei 2' 30" 0, die künst- liche Atmung vermag das Tier nicht zu retten.

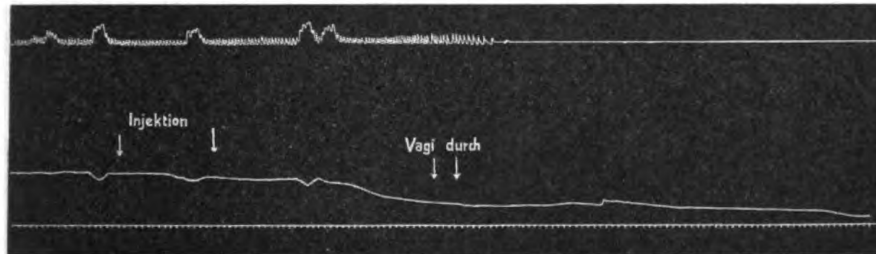


Fig. 6. Kaninchen No. 27.

8) 23. VII./44. Hammelserum, 3,0 ccm pro kg. Vor dem Versuch At- mung 68 pro Min., Höhe 22–25 mm, Blutdruck 91 mm im Mittel, Puls 242 pro Min.	vor der Reinj. während d. R. nach d. Reinj. 0–3" 3" 3–10" 10" 10–23" 20" 23–37" 27–32"	22–25 mm 20 " 18 " 19–20 " 20 1/2 " 21 1/2 " 17 1/2 "	68 50 . 60 54	Blutdruck 91 mm Hg, Puls 242 pro Min. Blutdruck anfangs auch 91 mm, von der 8. Sek. der Inj. ab fällt der Blut- druck etwas: 8" 90 mm, 12" 83 mm Hg! Blutdruck 78 mm Hg. Blutdruck 74 mm Hg, Puls 186 pro Min. Blutdruck 83 mm Hg, Puls 222 pro Min.
--	--	---	---------------------------	--

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Atemfrequenz, Größe der Atmung etc. vor der Reinj., Dauer der Reinj.	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Verhalten der Atmung, ihre mittlere Höhe etc. vor und während dem Versuche	Atemfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
28) Fortsetzung.	20—30"		54 Puls 222 pro Min. Blutdruck 82 mm Hg. " 74 " " " 68 " " Blutdruck 64 mm Hg, Puls nicht mehr zählbar.
	32"			Atemhöhe steigt nun langsam wieder: 33—35" 8½—9 mm.
	33"	4½ mm		
	35—41"	13½—11 mm		
	30—40"		102	
	40"	mittl. Höhe seit		
	40—50"	der 45. Sek. von 10 mm auf 17—18 in der 50. ge- stiegen, steigt weiter. 56 Sek. 38½ mm	120	Atemhöhe sinkt wieder: 42—43" 7½ mm, dann wieder Anstieg: 43—45" 9½ bis 10 mm. Blutdruck 42 mm Hg, sinkt weiter.
	50—60"		156	Zwischen 53. und 59. Sek. werden beide Nervi vagi durchschnitten! Krampf- hafte Atmung: stoßende Exspira- tionen bis 38½ mm Höhe (56. Sek.).

Von jetzt an ist die Atmung unregelmäßig, kleine Ex- bzw. Inspirationen wechseln mit maximalen, bis 1' 10" post inj. völliger Atemstillstand eintritt. Künstliche Atmung vermag das Tier nicht zu retten. Blutdruck sinkt — nach vorübergehender Steigerung nach der Vagusdurchschneidung — weiter: 3' post inj. = 0. Tod.

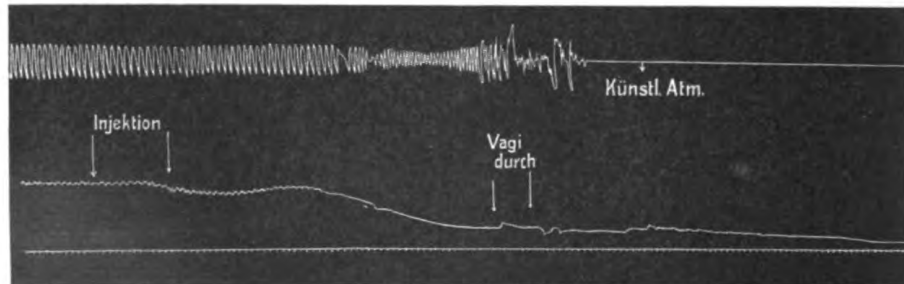


Fig. 7. Kaninchen No. 28.

Aus den vorstehenden Tabellen ist das Verhalten der Atmung nach der Reinjektion klar ersichtlich. Besonders geht aus den registrierten Werten der Größe der Atemexkursionen deutlich die Periodizität hervor (Spalte 3). Wir brauchen wohl hier die einzelnen Werte nicht nochmals besonders zusammenzustellen.

In Spalte 5 der vorstehenden Tabellen finden sich die zur Ergänzung der Beobachtungen an der Atmung nötigen Notizen über das Verhalten des Blutdruckes bzw. des Pulses.

Entsprechend diesen periodischen Bewegungen der Atemkurve zeigt die Blutdruckkurve charakteristische Veränderungen. Abgesehen von der allgemeinen Blutdrucksenkung, zeigt die Blutdruckkurve an den Stellen der geringsten Größe der Atemtiefe Erhebungen über das Niveau der Umgebung, während den Bergen meist, wenn auch nicht immer, leichte Senkungen des Blutdrucks entsprechen. Zeitlich hinken die genannten Veränderungen der Pulscurve denen der Atemkurve eine Wenigkeit nach.

Wir lassen nun die Tabellen mit dem Blutdruck und Pulswerten folgen.

Id. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Blutdruck u. Puls vor der Reinjektion, Dauer der Reinjektion	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Mittlerer Blutdruck in mm Hg, vor und während dem Versuche	Pulsfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
22. VII./48, 1,52 kg. Hammelserum, 0,0 ccm pro kg = 1,5 ccm. Vor dem Versuche: Blutdruck 105 mm Hg, Puls 222 pro Min.	vor: sof. n. Reinj.: 20" 30" 30—60" 1' 12" 1' 12"—1' 42" 1' 42"—2' 13" 2' 32" 3 1/2'	105 113 100 100 83 (64—102) 50 24 14	222 216 irregulär 64	Vaguspulse. Während dieser Periode wird Atrop. sulf. intravenös gegeben, und zwar 0,03 = 20 mg pro kg: In den darauf folgenden 12" keine Vaguspulse mehr. Beide Nervi vagi durchschnitten: Der Blutdruck steigt nicht. Die Pulse werden etwas größer, hören dann aber bald ganz auf. Tod.
22. VII./54, 1,57 kg. Hammelserum, 0,0 ccm pro kg = 1/4 ccm. Vor dem Versuche: Blutdruck 100 mm Hg, Puls 243 pro Min.	vor: nach d. Reinj.: 10" 35" 30—60": 1'—1 1/2' 1 1/2'—2' 2'—2' 20" 2 1/2'	100 112 88 (66—110) 48 38 38 (24—50)	243 irregulär 73	Vaguspulse. Atrop. sulf. 0,03 g = ca. 20 mg pro kg. Sofort nach der Atropin-Injektion Aufhören der Vaguspulse, Blutdruck sinkt. Wieder Vaguspulse. Beide Nervi vagi durchschnitten: Blutdruck steigt langsam.

Lfd. No., Datum, Tiergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Blutdruck u. Puls vor der Reinjektion, Dauer der Re- injektion	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Mittlerer Blut- druck in mm Hg, vor und während dem Versuche	Pulsfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
7) Fortsetzung.	3' 4' 5' 6'	40 44 43	245	Rechter Nerv. vagus, bald darauf linker peripher gereizt. Blutdruck steigt etwas: 62 mm Hg, sinkt dann wieder 54 mm Hg.
	7 1/2' 8' 9 1/4' 11 1/4'	62 54 65 75 85	280 275	Der Blutdruck steigt allmählich mehr bis bei einem mittleren Drucke von 90 mm Hg der Versuch abgebrochen werden muß, wegen Gerinnselformung in der Carotiskanüle.

Das Tier erholt sich und lebt nach Beendigung des Versuches noch eine Zeitlang (1 1/2 Tag) fort, geht dann infolge der Vagusdurchschneidung ein.

7) 21.VII./49, 1,65 kg, Hammelserum, 3,0 ccm pro kg = 5,0 ccm. Vor dem Versuche: Blutdruck 88—90 mm Hg, Puls 240 pro Min., Atmung 150 pro Min., Höhe 7 mm. Injektionsdauer 11 Sek.	vor d. Reinj.: nach d. Reinj.:	88—90	246	Atmung: Höhe 7 mm, 150 pro Min.
	18 1/2"	96		" " 6 1/2 " sinkt
	30"	108	244	" " 4 1/2 " 188 pro Min.
	40"	114	194	" " 3 " 192 " "
	43—44"	120		" " 1 1/2 " 150 " "
	1'	93	124	" " 1 " 120 " "
	1' 10"	80	Vaguspulse!	" " 1 " "
	1' 13"	92	78	" " 1 " "
	1' 30"	92	78 (noch immer Vaguspulse!)	" " 1 " 102 " "
	1' 50"	66	90, irregulär, inäqual, keine Vaguspulse mehr	" " 1 " 96 " "
	2' 16"	54	so klein, daß un- zählbar	" " 1/2 " 84 " "
	2' 17 1/2"			Beide Nervi vagi durchschnitten. Atem- höhe 1 1/2 mm, steigt allmählich, Fre- quenz 78 pro Min., sinkt nun.
	2' 24 1/2"	60		
	2' 32"	76 (Maximum) sinkt jetzt kon- stant		
	2' 33"—2' 40"	58		Atmung: Höhe 9 mm, 30 pro Min. sinkt wieder, steigt dann.
	2' 50"	56		Atmung: Höhe 2 mm, 42 pro Min.
	3' 2"	36	nicht zählbar	Atmung = 0, sistiert völlig!
	4' 50"	sinkt weiter! 0	0	Künstliche Atmung! 0

Life No., Datum, Körpergewicht in kg, Serumart, Dosis pro kg, Gesamtgabe, Vorbehandlung, Blutdruck u. Puls vor der Reinjektion, Dauer der Reinjektion	Zeit nach (ev. vor) der Reinjektion	Mittlerer Blutdruck in mm Hg, vor und während dem Versuche	Pulsfrequenz pro Minute vor und während dem Versuche	Bemerkungen
8) 29. VI./H., 1,43 kg, 2,0 ccm pro kg = 3,0 ccm. 2mal vorbehandelt am 15. V. u. 20. VI. Vor dem Versuche: Blutdruck 84 mm Hg im Mittel, Puls 24 pro Min., Atmung 74 pro Min., Höhe ca. 6 mm. Dauer der Injektion: 17 Sek.	vor d. Reinj.: während d. R.: nach d. Reinj.: 17" 0—9" 9" 9—20" 25" 27—28" 31" 32" 33" 34" (38—)45" 50" 1' 2' 6"	84 84 beginnt rapid zu sinken! 86—88 86—88 70 63 56 54 40 (n. 45") 31 20 0	224 216 216 216 216 204 204 100	Atmung: Höhe ca. 6 mm, Frequenz: 74 pro Min. Atmung: Höhe 6 1/2 mm, Frequenz: 72 pro Min. Atmung: Höhe 7 1/2 mm, Frequenz: 66 pro Min. Atmung: Höhe 7 1/2 mm, Frequenz: 66 pro Min. Atmung: Höhe sinkt. Atmung: Höhe 4 mm, Frequenz: 102 pro Min. Atmung: Höhe 1 1/2 mm. " 1 1/2 mm, Frequenz: 102 pro Min. Atmung: Höhe 20 mm, Frequenz: ca. 80 pro Min. Atmung: Höhe 1 mm. 5—6 mm, Frequenz: ca. 125 pro Min. 1' 5" Atmung 0. Künstliche Atmung. Künstliche Atmung!
7) 23. VII./40, 1,26 kg, Hammelserum, 3,0 ccm pro kg = 4,0 ccm. Vor d. Versuch: Blutdruck 72 mm im Mittel, Puls 280 pro Min., Atmung 14 pro Minute, Höhe 4—6 mm.	vor d. Reinj.: sof. n. d. R.: 10" 22" 29" 34—43" 40" 44" 51" 1' 4"	72 68 64 60 39 36—40 30 30 28 34	280 258 nicht mehr erkennbar	Atmung: Höhe 4—6 mm, Frequenz: 114 pro Min. Atmung: Höhe 4—5 mm, Frequenz: 102 pro Min. Atmung: Höhe 5 mm, Frequenz: 114 pro Min. Atmung: Höhe 4 mm. " 4 1/2 mm, Frequenz: 114 pro Min. Beide Nervi vagi durchschnitten. Atmung: Höhe 5—7 mm, Frequenz: 114 pro Min. Atmung: Höhe 6 mm. 0 Künstliche Atmung!

Die Atmung, betreffs deren im übrigen auf die entsprechenden Tabellen verwiesen wird, zeigt von der 1. Sek. post inj. ab ausgeprägte Periodizität mit Bergen und Tälern der Kurve. Die Blutdruckenkung setzt erst volle acht Sekunden nach der beschriebenen Veränderung der Atemkurve ein! Während 1' 5" post inj. die Atmung völlig sistiert, schlägt, wie wir es stets beobachten konnten, das Herz noch eine ganze Zeitlang fort: Blutdruck und Puls erreichen erst 2' 6" post inj. den Nullpunkt! Die sofort nach Atemstillstand eingeleitete künstliche Atmung vermag auch in diesem Falle das Tier nicht zu retten.

Die Atmung wird nach 55 Sek. nun ganz irregulär: krampfhaft stoßende Expirationen von großen Hö (bis 38 $\frac{1}{2}$ mm) wechseln mit kleineren und kleinen In- und Expirationen ab. 1' 10" post inj. sistiert Atmung völlig. Das Herz arbeitet zunächst noch eine Zeitlang weiter, doch sinkt der Blutdruck auf ganz geringen, kurzdauernden Unterbrechungen immer mehr, erreicht nach 3' post inj. die Nulllinie. Sogleich nach Sistieren der natürlichen eingeleitete künstliche Atmung (ab 1' 19" post inj.) vermag Tier nicht zu retten.

Durchweg bei allen unseren Versuchen konnten wir feststellen, daß das Aufhören der Atmung dem Aufhören der Herztätigkeit meist um längere Zeit vorangeht. Es gelingt daher nicht selten, die Versuchstiere, falls die Herztätigkeit nicht schon zu schwach geworden ist, d. h. bei rechtzeitigem Beginn, durch künstliche Atmung zu retten, während ohne dieselbe der Tod eintritt¹⁾.

In einer Anzahl von Versuchen kommt es zu ausgesprochenen Aktionspulsen. Diese lassen sich durch entsprechende Gaben Atropin (10 mg pro kg Tier) aufheben, stellen sich aber nach Aufhören der so erzielten Vaguslähmung unter Umständen von neuem wieder ein (siehe z. B. Versuch No. 7). Das Auftreten der Vaguspulse scheint hauptsächlich in den Fällen protrahierten Verlaufes des anaphylaktischen Shocks stattzufinden, doch kommen Ausnahmen vor.

Wenn Biedl und Kraus behaupten, bei ihren Versuchen an Kaninchen keinen anaphylaktischen Shock mit Tod gesehen zu haben, so kann das nur auf eine ungeeignete Versuchsanordnung — zu geringe Injektionsdosis u. dergl. — zurückzuführen sein. Wie aus den dieser Arbeit beigegebenen Kurven hervorgeht, verhalten sich Kaninchen schließlich nur quantitativ anders als das klassische Tier der Anaphylaxie, das Meerschweinchen. So wie wir in einer Anzahl von Versuchen (z. B. No. 6, 17, 18, 27, 28) echten anaphylaktischen Tod beim Kaninchen gesehen haben, konnten wir gleichsam als Probe auf das Exempel bei Tieren, welche den Shock überstanden, feststellen, daß sie am anderen Tag antianaphylaktisch waren. — Auf Grund des durch unsere Versuche beigebrachten Beweismaterials erscheinen alle gegenteiligen Behauptungen hinfällig, wie einer von uns an der Hand von Photographien unserer Kurven auf dem Mikrobiologentag zu Berlin 1910 zeigen konnte.

Es gelang uns übrigens nicht, die Tiere durch Atropininjektionen während des Shocks zu retten und in Ueber-

1) Hier sind — um die Behauptung von Biedl und Kraus, es gäbe beim Kaninchen keinen anaphylaktischen Tod, zu widerlegen — vorzugsweise tödliche Fälle als Beweismaterial wiedergegeben (No. 6, 17, 18, 27, 28).

einstimmung damit stehen neuere Befunde von Friedberger (diese Zeitschr., Bd. 8), der in Gemeinschaft mit Mita unter Einhaltung exakter quantitativer Verhältnisse die diesbezüglichen Angaben von Auer und Lewis für Meerschweinchen nicht bestätigen konnte.

Daß bei unseren reinjizierten Tieren nicht etwa primäre Serumgiftigkeit, die ohnehin durch Inaktivierung ausgeschaltet wurde, als Ursache des Shocks anzusehen ist, geht klar hervor aus dem Versuche No. 2 (Kontrollversuch, siehe oben).

Aus unseren Versuchen ergibt sich, daß das allererste Symptom der Anaphylaxie beim Kaninchen eine, wenn auch oft minimale, Veränderung der Atmung ist, die meist besteht in einem geringen Tiefer- und Seltenerwerden der einzelnen Atemzüge. Ob diese Erscheinung schon als erstes Symptom einer eben beginnenden Atemlähmung anzusehen ist, sei dahingestellt, ist aber nicht unwahrscheinlich. Doch folgen bald auf dieses Symptom die ersten Veränderungen der Blutdruckkurve und die Senkung findet sehr schnell statt, auch bei noch bestehender Atmung. Nach allen unseren (im ganzen 30) Versuchen, von denen indessen hier nur einige wenige angeführt sind, haben wir den Eindruck gewonnen, daß die Blutdrucksenkung nicht auf die von Biedl und Kraus irrtümlich so hoch bewertete Lungenblähung zurückzuführen ist! Daß nicht die letztere es ist, die die Blutdrucksenkung veranlaßt, geht zur Genüge hervor aus den Resultaten der Versuche von Friedberger und Mita, wonach vor der Reinjektion gegebenes Atropin beim Meerschweinchen zwar häufig das Auftreten der Lungenblähung verhindert, nicht aber den Tod. Daß die Lungenblähung überhaupt — wenigstens beim Meerschweinchen nicht — kein irgendwie für die Anaphylaxie charakteristisches Symptom ist, erhellt auch aus der schon oft seitdem betonten Tatsache, daß beim Meerschweinchen besonders, aber auch beim Kaninchen, alle möglichen anderen Gifte dieses Symptom in gleicher Promptheit und Vollkommenheit auslösen. Um nur noch eins zu nennen: Alle Gifte, die Atemlähmung machen, machen auch Lungenblähung! Aus dieser Tatsache allein schon ergibt sich der Wert des genannten Symptoms.

Bei der passiven Anaphylaxie des Kaninchens haben wir ganz analoge Veränderungen der Puls- und Atemkurve wie bei der aktiven Anaphylaxie.

Wir verweisen diesbezüglich auf eine Kurve, die der Arbeit des einen von uns, diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 7, beigegeben ist.

Wo nun eigentlich das anaphylaktische Gift angreift, darüber möchten wir uns auf Grund unserer Kaninchenversuche nicht bindend äußern.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Angaben über das Verhalten von Puls und Atmung beim anaphylaktischen Kaninchen.

Literatur.

- Abelous et Bardier, Compt. rend. Soc. Biol., T. 67, 1909.
 Achard et Aynaud, Ibid.
 Arthus, Compt. rend. Acad. Sciences, T. 148, 1909.
 Auer und Lewis, Journ. of Americ. Med. Assoc., Vol. 53, 1909.
 Biedl und Kraus, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.
 Friedberger, Diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 7.
 Friedberger und Hartoch, Ibid., Heft 6.
 Friedberger und Seelig, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 46.
 Loeffler, Diese Zeitschr., Bd. 8.
 Manwaring, Ibid., Bd. 8.
 Pfeiffer, H., Das Problem der Eiweißanaphylaxie. Jena 1910.
 Scott, Journ. of Pathol. and Bact., Vol. 14, 1909.
 Weiß, O., Pflügers Archiv, Bd. 65, 1897.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Physiologischen Institut der Universität in Krakau
(Direktor: Dr. N. Cybulski).]

**Die hämolytische und hämagglutinierende Wirkung des
Aethyl- und Methylalkohols und des Acetons. Hämolyse
und Hämagglutination unter der Einwirkung der Wärme.**

(Beitrag zur Theorie der Blutkörperchenfixierung.)

Von Dr. med. **M. Eiger.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Februar 1911.)

Die Erscheinungen der Hämolyse und Hämagglutination bilden den Gegenstand einer stets zunehmenden Anzahl von Abhandlungen auf dem Gebiete der Hämatologie und Serologie. Obwohl die Forschung einen Kritizismus und zunehmende Exaktheit aufweist, ist das Wesen dieser Erscheinungen noch bis heute unaufgeklärt geblieben. Wir können uns noch keineswegs genaue Rechenschaft darüber abgeben, worauf die Hämolyse und Hämagglutination eigentlich beruhen, welche Veränderungen in den Erythrocyten unter dem Einfluß dieser oder jener hämolysierenden und hämagglutinierenden Agentien vor sich gehen etc.

Aus diesen Gründen halte ich für unbedingt notwendig, die Untersuchung dieser Erscheinungen unter möglichst einfachen, nicht verwickelten und leicht in einen exakten Rahmen einzufügenden Bedingungen auszuführen. Obgleich ich die unter der Einwirkung von bestimmten chemischen Körpern erfolgenden Erscheinungen der Hämolyse und Hämagglutination keineswegs identifizieren möchte mit ähnlichen unter dem Einfluß von biologischen Faktoren, wie Sera, hämolytische Ambozeptoren etc., zustande kommenden Phänomenen, glaube ich dennoch, daß die genaue Ergründung dieser Erscheinungen, sowie sie unter dem Einfluß von leichter definierbaren Faktoren entstehen, geeignet ist, unsere Kenntnis der Hämolyse und Hämagglutination überhaupt zu fördern.

Zu Beginn meiner diesbezüglichen Untersuchungen habe ich mir die Frage gestellt, ob es organische chemische Ver-

bindungen von genau bekannter Zusammensetzung gäbe, welche sowohl hämolytisch, wie hämagglutinierend wirken.

Aus den Untersuchungen von J. Dunin-Borkowski und Z. Szymanowski¹⁾ ist zu ersehen, daß anorganische Verbindungen, und zwar die Salze von gewissen Schwermetallen (wie Silber z. B.) die Fähigkeit besitzen, in schwächeren Konzentrationen hämolytisch, in stärkeren hämagglutinierend zu wirken. Die Verfasser haben festgestellt, daß in einer Reihe von Röhrchen mit Lösungen von steigender Konzentration eines und desselben Salzes der Grad der Hämolyse zunächst eine ständige Zunahme, weiter aber eine Abnahme aufwies, indem sich gleichzeitig eine mit der Konzentration zunehmende Agglutination einstellte.

Nach ähnlich wirkenden organischen Verbindungen suchend, wandte ich zunächst mein Augenmerk den bei der histologischen Fixierung gebrauchten Verbindungen zu, und nach einer Reihe von Vorversuchen habe ich systematisch den Aethyl- und Methylalkohol, sowie das Aceton geprüft.

Es kam die allgemein übliche Methodik zur Anwendung.

Die Alkohole sowie das Aceton waren chemisch rein gewonnen und sind von mir noch einmal destilliert worden. Die Rindererythrocyten wurden zweimal in physiologischer (0,9-proz.) Kochsalzlösung (Kahlbaum) auf einer elektrischen Zentrifuge 1 Stunde bzw. 45 Minuten gewaschen. In eine Reihe von möglichst gleichen Eprouvetten wurde zunächst die Kochsalzlösung, dann das betreffende Reagens und endlich die Erythrocytenaufschwemmung eingeschüttet in den aus der Tabelle ersichtlichen Mengen; die Ergebnisse sind in derselben Tabelle verzeichnet (siehe p. 240).

Die angeführte Tabelle stellt die Tatsache fest, daß sowohl Aethyl- und Methylalkohol, wie Aceton die Fähigkeit besitzen, in schwächeren Konzentrationen hämolytisch, in stärkeren hämagglutinierend zu wirken; anfänglich nimmt der Grad der Hämolyse zu entsprechend der Zunahme der Konzentration; bei weiterer Steigerung der Konzentration sinkt die Hämolyse allmählich von 100 Proz. auf 0 Proz., gleichzeitig aber tritt eine neue Erscheinung hervor, die Hämagglutination, deren Intensität parallel mit der Konzentration wächst.

1) Agglutination und Hämolyse von roten Blutkörperchen unter dem Einfluß von Salzen schwerer Metalle. (Extrait du Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie, Mai 1909.)

Tabelle.

No.	Erythro- cyten	Reagens- cem	NaCl	Ergebnisse		
				Aethylalkohol	Methylalkohol	Aceton
1	0,5	0,2	9,3	Hämol. 0 Proz. Emuls.	Hämol. kaum sichtbare Spuren	Hämol. 0
2	0,5	0,5	9,0	1	"	"
3	0,5	0,6	8,9	8	"	"
4	0,5	0,8	8,7	10	Spuren	Spuren
5	0,5	1,0	8,5	45	2 Proz.	2 Proz.
6	0,5	1,5	8,0	100	5	25
7	0,5	2,0	7,5	100	6	100
8	0,5	2,5	7,0	100	16	100
9	0,5	3,0	6,5	100	50	100
10	0,5	3,2	6,3	100	55	100
11	0,5	3,5	6,0	100	70	100
12	0,5	3,8	5,7	95	100	95
13	0,5	4,0	5,5	80	100	80
14	0,5	4,2	5,3	75	100	40
15	0,5	4,5	5,0	75	100	12
16	0,5	4,8	4,7	50	"	8
17	0,5	5,0	4,5	18	"	1
18	0,5	5,5	4,0	Spuren	Agglut. +	Spuren
19	0,5	6,0	3,5	0	++	0
20	0,5	6,5	3,0	0	+++	0
21	0,5	7,0	2,5	0	+++	0
22	0,5	7,5	2,0	0	+++	0
23	0,5	8,0	1,5	0	+++	0
24	0,5	9,0	0,5	0	+++	0
25	0,5	9,5	0	0	+++	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, entsprach in diesen Versuchen die Kochsalzkonzentration nicht den für die physiologische Lösung erforderlichen 0,9 Proz. (Verdünnung durch Reagenszusatz); um diese eventuelle Fehlerquelle auszuschalten, habe ich eine parallele Versuchsreihe angesetzt, wo die Kochsalzkonzentration genau 0,9 Proz. betrug. Es kam genau dieselbe Wechselwirkung von Hämagglutination und Hämolyse zum Vorschein. Die Differenzen zwischen den beiden Versuchsreihen waren minimal. Beim Aceton z. B. trat in der zweiten Reihe eine minimale Hämolyse anstatt 0 Proz. der ersten Reihe auf; 100 Proz. Hämolyse trat in beiden Reihen in den Röhrchen No. 6 auf, der Anfang der Agglutination in den beiden Reihen in No. 10; in No. 15 der ersten Reihe betrug die Hämolyse 8 Proz. und die Agglutination war deutlich, während in der zweiten Reihe deutliche Agglutination und Spuren von Hämolyse auftraten etc.

In der mir zugänglichen Literatur habe ich keine Angaben darüber gefunden, daß Aceton, Aethyl- und Methylalkohol je nach ihrer Konzentration eine hämolytische resp. hämagglutinierende Wirkung ausüben können.

H. Köppe¹⁾ hat zwar bei seinen hämolytischen Untersuchungen Aceton und Alkohol verwendet, hat aber nur mit schwachen Konzentrationen gearbeitet. Aber die genaue Prüfung seiner Protokolle No. 15 und 16 (p. 83) ergibt ohne weiteres, daß bei der höchsten von ihm angewandten Verdünnung von 50 Proz. die ersten Spuren der Agglutination auftraten. Ohne das Sediment mikroskopisch untersucht zu haben, gebraucht er ganz willkürlich den Ausdruck „Coagula“, während er nur wenige Zeilen später in demselben Versuch und in denselben Röhrchen ein „rotes Sediment“ sich bilden sieht. Diese „Coagula“, welche nach 13 Minuten als „rotes Sediment“ zu Boden gefallen waren, waren sicher nichts anderes als agglutinierte rote Blutkörperchen; die Flüssigkeit darüber war rötlich verfärbt.

Im Versuch 16 finde ich eine vollkommene Uebereinstimmung mit dem von mir mit 50 Proz. Aceton erhaltenen Ergebnis (Röhrchen 17: Hämolyse 0, Agglutination stark aus-

1) H. Köppe, Ueber das Lackfarbenwerden der roten Blutscheiben. Pflügers Arch., Bd. 99, 1903, p. 82.

gesprochen; bei Köppe nach 30 Minuten: „überstehende Flüssigkeit farblos, Sediment unten rot“). Köppe sagt deutlich, daß wässrige Acetonlösungen bis 25 Proz. hämolytisch wirken, daß eine 37,5-proz. Lösung neben Hämolyse noch Trübungen erzeugt, die Verf. als einen Eiweißniederschlag ansieht; bei 50 Proz. tritt die Trübung sofort ein und es „sedimentiert ein roter Niederschlag“. In seiner ausschließlich der Hämolyse gewidmeten Arbeit ließ offenbar Köppe, der höhere Aethylalkohol- und Acetonkonzentrationen gar nicht zur Anwendung brachte und das Sediment weder makroskopisch noch mikroskopisch genauer prüfte, die Erscheinung der Agglutination unbeachtet.

Es muß bemerkt werden, daß in meinen Versuchen die agglutinierten Blutkörperchen so feste Agglomerate darstellten, daß ihre Verteilung nur bei intensivem Schütteln gelang; die auseinander getriebenen Blutkörperchen sanken sofort oder sehr schnell zu Boden und behielten sehr lange (bis zu 3 Monaten!) ihre grellrote Farbe. Nur die mittelst Methylalkohol agglutinierten Blutkörperchen zeigten einen Umschlag in rötlichbraune Farbe.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die agglutinierten Blutkörperchen ihre natürliche Gestalt bis zu einem gewissen Grade behalten: in sämtlichen Präparaten konnte ich doppelt konturierte, mehr oder weniger verkleinerte Blutkörperchen nachweisen. Selbstverständlich fand ich in Konzentrationen, wo neben der Agglutination noch deutliche Hämolyse auftrat, außer den gut erhaltenen Resten von hämolytischen Blutkörperchen „Schatten“ etc. Bei schwächeren Konzentrationen waren die Veränderungen und die Zusammenballungen geringer als bei stärkeren, resp. bei reinem Aceton und Alkohol. Ich habe diese Tatsache verwertet für die Untersuchung der infolge der Agglutination auftretenden morphologischen Veränderungen sowie für die Untersuchung der Struktur der Blutkörperchen im allgemeinen. Die agglutinierten Blutkörperchen habe ich mit Eosin oder nach der üblichen Methode nach Giemsa, die mit Methylalkohol agglutinierten auch nach May-Grünwald gefärbt. Beim Frosch zeigten die agglutinierten Blutkörperchen eine glänzendrote Färbung des Zellkörpers und eine hellblaue des Kernes.

Die Beschreibung dieser Färbung wird in einer anderen Abhandlung angegeben, die sich ausschließlich mit den morphologischen Veränderungen der Blutkörperchen unter dem Einfluß von agglutinierenden Faktoren beschäftigen wird. Diese Methode erlaubt uns vor allen Dingen, mit größeren Mengen von Blutkörperchen zu operieren, und sie sehr lange namentlich in Aceton zu konservieren. Bei der gewöhnlich in der Hämatologie geübten Technik werden die Blutkörperchen auf dem Deckglas ausgestrichen oder eigentlich zerdrückt (die doppelte Konturierung ist dabei gewöhnlich nicht mehr zu sehen), getrocknet und dann erst fixiert. Indessen ergab es sich aus weiter noch zu besprechenden Versuchen, daß bei Zimmertemperatur (18—20°) getrocknete Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung hämolysiert werden. Unsere Methode sucht das schädliche Zerdrücken und Trocknen zu vermeiden. Aus meinen Versuchen ergibt sich auch, daß die Wirkung des Alkohols und des Acetons bei der gewöhnlichen Fixierung im Sinne der Agglutination zu deuten ist. „Fixierte“ Blutkörperchen soll eigentlich so viel heißen als durch Alkohol agglutinierte. Der Mangel der doppelten Konturierung an unseren üblichen Blutpräparaten wäre anscheinend als ein Effekt beim Zerdrücken und Austrocknen zu erklären.

Die Frage der Fixation läßt uns an noch einen Umstand denken. Bekanntlich wird für die Färbung mit der Ehrlich'schen Triacidmischung das in dünnster Schicht aufgetragene Blutpräparat durch Erhitzen auf einer Kupferplatte bis 100°—130° fixiert. Kowarski empfiehlt als Temperaturindikator die bei 132° schmelzenden, chemisch reinen Harnstoffkristalle.

Ich habe mir die Frage gestellt, in welcher Weise eigentlich die Wärme die Blutkörperchen beeinflusst und worauf die Wärmefixierung nach Ehrlich beruht. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche angestellt.

In eine Reihe von verschiedenen, aber konstant temperierten Wasserbädern wurden Reagenzröhrchen von ein und demselben Kaliber eingestellt, jedes mit 10 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenemulsion in physiologischer Kochsalzlösung beschickt. Die nach 30 Minuten notierten Ergebnisse gestalteten sich folgendermaßen:

- 40° Hämolyse 0 Emulsion.
- 50° Spuren von Hämolyse-Emulsion.

- 60° Hämolyse 100 Proz. Auf dem Boden des Röhrchens spärlicher Niederschlag, bestehend aus agglutinierten Blutkörperchen (Schatten); die Höhe der Schicht = 0,5 cm. Farbe schokoladenbraun.
- 66° Hämolyse 10 Proz. Deutliche Agglutination. Der Niederschlag bedeutend reichlicher; die Höhe der Schicht = 1,5 cm.
- 70° Kaum merkliche Spuren von Hämolyse. Die Flüssigkeit über dem Sediment klar. Der Niederschlag noch reichlicher; die Schicht ist 1,7 cm hoch. Deutliche Agglutination; die aufgewirbelten Blutkörperchen fallen rasch zu Boden.
- 80° Hämolyse 0. Die Flüssigkeit klar, die Agglutination deutlich.

Die in den Röhrchen gemessene Temperatur war um 4—6° niedriger als im Wasserbade. Um die Temperatur der kompletten Hämolyse genau zu bestimmen, wurde die Wärme in den Röhrchen selbst gemessen, indem das Thermometer als Rührer diente. Bei 47° war die Hämolyse noch = 0, bei 58—59° war sie komplett. Wir sehen also unter dem Einfluß eines rein physikalischen Faktors, wie der Wärme, die Erscheinungen der Hämolyse und der Agglutination ganz ähnlich auftreten wie unter der Wirkung von Aceton und Alkohol. Bei steigender Temperatur nimmt die Hämolyse anfänglich zu, um später geringer zu werden, dafür aber stellt sich gleichzeitig eine allmählich wachsende Agglutination ein. Die unter dem Einfluß der Wärme agglutinierten Blutkörperchen fallen rasch zu Boden; bei 70° weisen sie noch die doppelten Konturen auf, bei 80° bilden sie nur Agglomerate von so kleinen runden Kügelchen, daß nur der Vergleich mit bei 70° erhaltenen Präparaten uns an stark veränderte rote Blutkörperchen denken läßt. Um schließlich rote Blutkörperchen unter Bedingungen der Fixierung nach Ehrlich zu prüfen, habe ich sie untersucht, auf Deckgläsern ausgestrichen und 1) bei Zimmertemperatur getrocknet, 2) im Brutschrank bei 32° getrocknet, 3) nach den Angaben Ehrlichs fixiert, 4) auf der Kupferplatte überhitzt. Es ergab sich, daß sowohl die bei Zimmertemperatur und bei 32° getrockneten wie die überhitzten Hämolyse aufwiesen, während die nach Ehrlich fixierten ohne jede Hämolyse zu Boden fielen. Dabei habe ich beobachtet, daß, während der auf der Platte befindliche Harnstoffkristall schmolz, das Deckglas je nach seiner Dicke eine Temperatur von kaum 36—40° aufwies. Auf Grund der Versuche über die Wirkung der Wärme auf rote Blutkörperchen erscheint die Annahme plausibel, daß in ihnen bei der

Fixierung nach Ehrlich dieselben Veränderungen erfolgen wie bei der Agglutination unter dem Einfluß der Wärme.

Die Temperaturdifferenz (46° und 59°) zwischen der Agglutination auf dem Deckglas und im Reagenzröhrchen läßt sich dadurch erklären, daß im ersten Fall die Blutkörperchen trocken, im zweiten aber in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert sind.

Die Tatsache, daß die Hämolyse bei 58–59° erfolgt, stimmt vollkommen überein mit diesbezüglichen Angaben anderer Autoren: Gross¹⁾ 59°, Schultze²⁾ 60°, Engelm³⁾ 56–60°, Stewart⁴⁾ 60–65°, Rollet⁵⁾ 60–64°, Köppe⁶⁾ 65–66° (Schweineblut).

Die mitgeteilten Versuche veranlassen mich, zu folgenden Fragen Stellung zu nehmen:

1) Wird bei der Agglutination der roten Blutkörperchen Alkohol und Aceton gebunden und handelt es sich dabei um Adsorption oder Absorption?

2) Welche morphologische und physikalische Veränderungen erfolgen bei der Agglutination der roten Blutkörperchen?

3) Zeigt die Wirkung der Sera und anderer biologischer Faktoren irgendwelche Analogie mit dem Einfluß von Alkohol und Aceton?

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen in späteren Publikationen mitgeteilt werden.

Herrn Prof. Dr. N. Cybulski, Direktor des Physiologischen Institutes, wo diese Untersuchungen ausgeführt wurden, spreche ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über den Einfluß von Aceton, Methyl- und Aethylalkohol auf die Agglutination und Lyse roter Blutkörperchen. Sie wirken in schwächeren Konzentrationen hämolytisch, in stärkeren agglutinierend.

- 1) Zeitschr. f. exp. Path. u. Therapie, 1907.
- 2) Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 1, 1865 (zit. nach Köppe).
- 3) Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 4 (idem).
- 4) Journ. of Physiol., Vol. 25 (idem).
- 5) Pflügers Arch., Bd. 82, 1900.
- 6) l. c.

Nachdruck verboten.

Die Resonanztheorie, eine physikalische Theorie der Immunitäterscheinungen.

Von Prof. J. Traube (Charlottenburg).

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Februar 1911.)

1. Die Wirkung der gewöhnlichen Gifte.

Das Ultramikroskop hat in bezug auf unser Beobachtungsvermögen eine bedenkliche Lücke ausgefüllt. Es hat uns vieles gezeigt, was wir vordem auf Grund theoretischer Beobachtungen zwar vermuten, aber nicht sehen konnten.

Wenn wir etwa zu einer Eiweiß- oder Lecithinlösung gewisse Salze zusetzen, so beobachten wir bei ganz bestimmten Salzzusätzen häufig den Eintritt einer Flockung. Was aber vorher, bei geringerem Salzzusatze, in der Kolloidlösung vor sich geht, das bleibt unserem unbewaffneten Auge verborgen, und doch gehört nicht viel Scharfsinn dazu, um einzusehen, daß nicht etwa erst die physikalischen Zustandsänderungen in der Kolloidlösung in dem Augenblicke beginnen, wo sie unserem unvollkommenen Auge sichtbar werden.

Raehlmann¹⁾ war wohl der erste, welcher in biologischer Beziehung die Erfahrungen der Ultramikroskopie ausgenutzt hat. Dieser verdiente Forscher und nach ihm viele andere zeigten, daß, wenn man einer eiweißhaltigen Lösung, einer Farbstofflösung Chlornatrium oder besser noch gewisse Schwermetallsalze (Kupfersulfat, Bleiacetat etc.) hinzufügte, zahlreiche neue Teilchen sichtbar wurden und die bisher sichtbaren Teilchen zu 2, 3 etc. Teilchen zusammentraten. Ultramikroskopische und alsdann, wie ich mich selbst bei meinen Versuchen an Farbstofflösungen überzeugen konnte, mikroskopische Flockungen gehen somit den sichtbaren okularen Flockungen voraus. Die Teilchengröße kann dabei außer-

1) Raehlmann, Beiträge zur Augenheilkunde, 1905, Heft 62, p. 73; Gaidukow, Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskop, Jena (G. Fischer) 1910, und Physikalische Zeitschr., Bd. 4, 1903, p. 884.

ordentlich verschieden sein, wie dieses ja schon aus den ursprünglichen Arbeiten von Zsigmondy über kolloidale Goldlösungen hervorgeht. Kolloide sind somit im Gegensatz zu den Kristalloiden schon in Lösungen befähigt, sich zu größeren Komplexen — den Micellen von Nägeli — zu aggregieren, und ich nehme keinen Anstand, gerade diesen Unterschied im Verhalten der beiden Körperklassen für ihre biologische und sonstige Wirksamkeit als ausschlaggebend zu betrachten.

Wenn nun ein giftiger Stoff aus einem kolloidalen Milieu, etwa ein Krankheitsstoff aus dem Blutserum, sichtbar gefällt wird, so sind wir überzeugt, daß derselbe für das betreffende flüssige Milieu unschädlich geworden ist. Aber nichts berechtigt uns zu der Annahme, daß diese Entgiftung des Milieus erst dann eintritt, wenn der Stoff dem bloßen Auge sichtbar geworden ist. Die vorhergehenden Erörterungen führen vielmehr zu der Annahme, daß ein in einem flüssigen Milieu gelöster kolloidaler giftiger Stoff für das Milieu in dem Maße ungiftiger wird, als derselbe sich allmählich ultramikroskopisch, mikroskopisch und schließlich okular vergrößert. Diese an und für sich verständliche Annahme folgt auch aus der Theorie und den weiter unten zu besprechenden Beobachtungen, denn zunächst die Theorie¹⁾ läßt es verständlich erscheinen, daß etwa durch einen Salzzusatz die Affinität eines Kolloids zum Wasser (sein Haftdruck) gelockert wird und diese Lockerung führt alsdann zur Aggregation der Teilchen.

Je größer die Aggregation ist, um so größer ist auch die Haftlockerung, um so weniger wirkt der Stoff auf das Milieu ein, um so leichter geht derselbe in die Oberfläche (nach Gibbs-Thomsons Prinzip) und um so leichter wird er sich aus dem Milieu durch eine zweite Phase entfernen lassen²⁾. Weiter unten und in meinen demnächstigen ausführ-

1) Vergl. meine Arbeiten über den Haftdruck etc., Pfügers Archiv, Bd. 105, 1904, p. 541; Bd. 123, 1908, p. 419; Bd. 132, 1910, p. 511.

2) Haben die Stoffteilchen eine gewisse Größe erreicht, so geht ja auch das bisher einphasige System in ein zweiphasiges über.

lichen Arbeiten wird sich zeigen, daß, wenn durch wachsende Salzzusätze zu Kolloidlösungen etc. die darin enthaltenen Kolloide immer mehr aggregiert werden, schließlich ein Punkt eintritt, wo die Lösung zwar im Mikroskope schon Flocken zeigt, aber dem unbewaffneten Auge noch völlig durchsichtig erscheint; ein weiterer Salzzusatz führt alsdann meist zur sichtbaren Flockung. Jener Punkt ist nun dadurch bemerkenswert, daß die völlig durchsichtige Lösung ganz einem zweiphasigen System entspricht, indem sie in bezug auf physikalische Eigenschaften, wie beispielsweise die Oberflächenspannung etc., sich genau wie Wasser verhält, während dies, so lange die Aggregate in den Vorstadien des Salzzusatzes kleiner waren, keineswegs der Fall war.

Die obige Annahme, daß kolloidale Gifte in dem Maße weniger giftig werden, als sie sich fortschreitend ultramikroskopisch und mikroskopisch aggregieren, ist daher keine kühne Hypothese, sondern sie wird durch die Theorie wie Erfahrung in gleicher Weise bestätigt (siehe weiter unten, p. 250 und 255 dieser Arbeit).

So wertvoll nun auch das Ultramikroskop für die biologische Forschung in qualitativer Beziehung geworden ist, so wenig befriedigend sind die Ergebnisse in quantitativer Beziehung. Man mußte sich meist mit ungefähren Schätzungen begnügen. So hat man sich denn bei den quantitativen biologischen Kolloidstudien auf den Moment der sichtbaren Flockungserscheinungen beschränkt, während die ultramikroskopischen Vorstadien dieser Kolloidflockungen — so wichtig sie auch sind — der bisherigen quantitativen Untersuchung verschlossen waren.

Hier bietet nun die von mir ausgebildete stalagmometrische Tropfmethode¹⁾ der Messung der Oberflächen-

1) Ueber das Stalagmometer (C. Gerhardt in Bonn) vergl. Zeitschr. f. Biochem., Bd. 24, 1910, p. 341; ferner zur Geschichte dieses Apparats meine Abhandlungen: Journ. f. pr. Chem., N.F. Bd. 34, 1886, p. 292, sowie Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, 1887, p. 2644, 2824, 2827 u. 2831; ferner Lohnstein, Ann. der Phys. (4), Bd. 20, 1906, p. 237 u. 606, und Bd. 22, 1907, p. 767; F. Kohlrausch, ebenda, Bd. 20, 1906, p. 798. — De Agostini und Stabilini (Bioch. e Terapia sperimentale, Anno 2, 1910, Fasc. 2) haben

spannung ein wertvolles Hilfsmittel. Es zeigt sich nämlich, daß selbst die kleinsten Aenderungen in dem Zustande mancher kolloidaler Milieus durch Aenderungen der Oberflächenspannung und somit der Tropfengröße angezeigt werden, und demgemäß kann man mit Hilfe des Stalagmometers sowie eines neueren Apparates, des Viskostagometers¹⁾, die physikalischen Zustandsänderungen von Kolloidlösungen quantitativ verfolgen, welche mehr qualitativ von dem Ultramikroskope angezeigt werden.

Das gegenwärtig in der klinischen Medizin vielfach angewandte Stalagmometer ist ein einfacher Tropfapparat, welcher an einer kreisförmigen Endfläche gleichmäßige Tropfen sich bilden läßt und mit Hilfe einer kleinen Skala noch Bruchteile eines Tropfens abzuschätzen gestattet. Das Tropfenvolumen ist nun direkt proportional der Steighöhe im kapillaren Rohre und somit das auf Wasser bezogene Tropfenvolumen einer Flüssigkeit ein direktes Maß der Oberflächenspannungskonstante σ . Während man mit dem Viskostagometer direkt das Tropfenvolumen bestimmt, wird mit dem Stalagmometer die dem Tropfenvolumen umgekehrt proportionale Zahl der Tropfen festgestellt, welche in einem durch zwei Marken abgegrenzten Volumen einmal für die betreffende Flüssigkeit, einmal für Wasser in dem Apparate enthalten sind.

einen automatischen elektrischen Tropfenzähler als Hilfsapparat zum Stalagmometer konstruiert, welcher auf meine Veranlassung in wesentlich vereinfachter Ausführung nunmehr von der Firma C. Gerhardt hergestellt wird. Die Zahl der Tropfen wird mit Hilfe eines elektrischen Kontakts von einem Zeigerwerk angezeigt und eine elektrische Klingel sorgt dafür, daß der Beobachter rechtzeitig am Apparat erscheint. Der Apparat funktioniert vortrefflich.

1) Das Viskostagometer dient zur Bestimmung der Oberflächenspannung und der Reibung. Es bietet namentlich da Vorteile, wo nur kleine Flüssigkeitsmengen zur Verfügung stehen. 2 bis 3 Tropfen Serum genügen zur Untersuchung. Auch dauert eine Bestimmung der Oberflächenspannung nur 2 bis 3 Minuten. Man bestimmt einfach mit Hilfe einer feinen kalibrierten engen Röhre die Zahl der Teilstriche, welche einem Tropfen entsprechen, der sich vom unteren Ende der Röhre ablöst. Anfängern sei indessen das Stalagmometer empfohlen; auch sonst soll das Viskostagometer das Stalagmometer nicht verdrängen, sondern nur ergänzen. Die Firma Gerhardt gibt nähere Auskunft.

Meine Versuche wurden zunächst mit einem hochkolloidalen basischen Farbstoffe ausgeführt, dem Nachtblau¹⁾. In dem von mir benutzten Stalagmometer betrug bei 20° die Tropfenzahl für Wasser = 49,95 Tropfen; für eine 0,2-proz. Nachtblaulösung war die Tropfenzahl im Mittel = 58,5 Tropfen. Schwankungen von $\pm 1,5$ Tropfen bei verschiedenen Herstellungen und an verschiedenen Tagen kamen vor, da in kolloidalen Systemen stets Veränderungen vor sich gehen. Setzte man nun zu 10 ccm Nachtblaulösung mit meinem T.-K.-Tropfglas 1 Tropfen $\frac{1}{20}$ n. KCl, so wurde die Tropfenzahl der Farbstofflösung kaum meßbar geändert, dahingegen erniedrigte der Zusatz eines Tropfens $\frac{1}{200}$ n. KJ zu 10 ccm die Tropfenzahl von 58,5 auf 53,6 und 1 Tropfen $\frac{1}{20}$ n. KJ bewirkt eine Abnahme der Tropfenzahl auf 43,1; dieses ist das Minimum der Tropfenzahl. Bei weiterem Zusatz nimmt die Tropfenzahl wieder zu, bei Zusatz von 1 Tropfen $\frac{1}{2}$ n. KJ zu 10 ccm Nachtblaulösung hat die völlig durchsichtige Lösung die Tropfenzahl des Wassers 49,95, und der nächste Tropfen $\frac{1}{2}$ n. KJ bringt eine dicke Flockung des Farbstoffs hervor, indem etwa die Hälfte des Jodkaliums vom Farbstoff absorbiert wurde. 1 : 400 000 Teile KJ kann man nach dieser Methode noch mit Sicherheit nachweisen.

Das Jodkalium vergiftet hiernach das Farbstoffmilieu; worin die Vergiftung besteht, ergibt sich nach obigem leicht. Die Farbstoffteilchen werden aggregiert, und zwar in zunehmendem Maße mit wachsender KJ-Menge. Das Minimum erklärt sich aus dem Umstande, daß, wenn die Farbstoffaggregation ultramikroskopisch einen gewissen Grad erlangt hat, der Farbstoff sich mehr und mehr wie eine zweite Phase, wie ein ausgeschiedener Stoff verhält (siehe oben). In dem Maße, wie sich die Tropfenzahl derjenigen des Wassers nähert, mehren sich die bereits unter dem gewöhnlichen Mikroskope sichtbaren Flocken und dann kommt der Augenblick, wo auch das unbewaffnete Auge die Flocken wahrnimmt.

Die Untersuchung wurde nun zunächst auf die verschiedensten Alkalisalze ausgedehnt. Dabei ergab sich, daß

--

1) Ueber dessen Dextringehalt vergl. meine demnächstigen Mitteilungen Zeitschr. f. Kolloide oder Biochem. Zeitschr.

je mehr ein Salz die Oberflächenspannung der Farbstofflösung vergrößert, bei um so geringerem Zusatze tritt auch die sichtbare Fällung ein, ein fernerer Beweis, daß die Aenderung der Oberflächenspannung auf ultramikroskopische Aggregationen (bezw. Desaggregationen) zurückzuführen ist.

Es ergab sich ferner, daß Alkalisalze, welche man zu den Blutgiften rechnet, die Farbstofflösung auch besonders stark vergiften. Am stärksten wirken KJ, KClO_4 , KCNS, dann folgen KClO_3 , K_2S etc. Diese Beziehung von Blutgiftigkeit und Farbstoffgiftigkeit ist allgemeiner Natur. Sehr giftig waren Schwermetallsalze, wie HgCl_2 , AgNO_3 , CdJ_2 etc. 1 Teil Quecksilberchlorid war noch in 3 000 000 Teilen der Farbstofflösung nachweisbar. HgCl_2 erwies sich auch für den Farbstoff weit giftiger als das nach Paul und Krönig¹⁾ für Bakterien wesentlich weniger giftige $\text{Hg}(\text{CN})_2$, wie sich überhaupt auch die weitgehendste Analogie zwischen Bakteriengiftigkeit und Farbstoffgiftigkeit ergab²⁾. Von Säuren war die arsenige Säure giftiger als Atoxyl und dieses wiederum giftiger als Kakodylsäure, Orthophosphorsäure war ungiftig, dagegen war Metaphosphorsäure wesentlich giftiger, und ebenso zeigte Trichloressigsäure, entsprechend ihrer Aetzwirkung, in sehr geringer Konzentration stark flockende Eigenschaften. Phenol verhielt sich ganz anders wie Phenolsulfosäure, und Salicylsäure abweichend von den ungiftigen m- und p-Oxybenzoesäuren. Basische Gifte, wie die Salze der Alkaloide, wirkten indessen auf den basischen Farbstoff Nachtblau so gut wie gar nicht. Wenn man indessen an Stelle des basischen Farbstoffs einen geeigneten sauren Farbstoff wählte, so erfolgten nunmehr durch basische Gifte erhebliche Aenderungen der Oberflächenspannung. 1 Tropfen 2-proz. Cocainchlorhydrat zu 10 ccm 0,2-proz. Wollviolettlösung gesetzt, erhöht die Tropfenzahl von 54 auf 66 Tropfen, und man kann so noch 1 Teil Cocain, Aconitin, Atropin etc. in 3 000 000 Teilen Farbstofflösung nachweisen; für weniger giftige Alkaloide, wie beispielsweise Morphin etc., waren die Ausschläge nicht so groß.

1) Paul und Krönig, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 21, 1896, p. 414.

2) Vergl. hierüber meine demnächstige Abhandlung über die Theorie des Haftdrucks in Pflügers Archiv.

Piperazin erwies sich als ungiftig, Pyrrol und Pyridin wenig giftig, dann folgten, in zunehmendem Maße für den Farbstoff an Giftigkeit zunehmend, Anilin, Phenylhydrazin, Piperidin, Nikotin und Conin. Es ist dies auch etwa die Skala der Blutgiftigkeit. Ebenso erwies sich Brenzkatechin giftiger als Resorcin und Hydrochinon, und das vornehmlich basische Salvarsan, welches nur entsprechend seinem Salzsäuregehalt auf Nachtblau wirkte, zeigt in bezug auf Wollviolett stark flockende Wirkungen.

Aehnlich wie Wollviolett verhalten sich saure anionische Milieus, wie Lecithinemulsion oder Seifenlösung. Meist ist die Reihenfolge der Stoffe in bezug auf die mit Hilfe der Oberflächenspannung und der sichtbaren Flockung gemessene Giftwirkung dieselbe wie für Wollviolett, wenn auch unzweifelhafte Verschiebungen im einzelnen vorhanden sind. Aconitin, Cocain, Atropin etc. bringen eine große Erniedrigung der Oberflächenspannung hervor, Morphin, Chinin etc. eine weniger große. Die Reihenfolge der einfachen oben genannten Basen ist namentlich für Lecithinemulsion kaum geändert; dabei erkennt man an der Klärung der Emulsion, daß vielfach, aber keineswegs immer, der Erniedrigung der Oberflächenspannung, also der Erhöhung der Tropfenzahl, eine Desaggregation der komplexen Kolloidteilchen parallel geht ¹⁾).

Ein Analogon zu dem basischen Nachtblau bilden nun die kolloidalen Metallösungen, wie Platin und Gold. Die interessanten älteren Versuche von Bredig ²⁾ und seinen Schülern finden durch meine Feststellungen eine Erklärung. Bredig stellte fest, daß die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch kolloidale Metalle wie durch Blutsera aufgehoben oder verzögert wird — durch Blutgifte. Mit Ausnahme der Blausäure, welche ein Atmungs-, aber kein Blutgift ist, und ebenso kein Bakteriengift ³⁾, ist die Uebereinstimmung zwischen

1) Das Schlangengift Cobra, welches ich der Güte des Herrn Prof. Calmette verdanke, wirkt sehr stark, aber lediglich physikalisch auf die Lecithinemulsion.

2) Bredig und v. Berneck, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 31, 1899, p. 258; Bd. 37, 1901, p. 1 und 323; ferner Senter, ebenda, Bd. 44, 1903, p. 257.

3) Paul und Krönig, l. c.

meinen Ergebnissen an Nachtblau mit denen am Platinmilieu geradezu überraschend¹⁾. Ob die Veränderungen in der Größe der Platinteilchen auch mit Hilfe des Stalagmometers festgestellt werden können, soll noch untersucht werden.

Man versteht hiernach die empirischen Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit, daß gerade die Gifte des Blutes und sonstiger Körperflüssigkeiten, sowie die Bakteriengifte die heterogensten kolloidalen Milieus, wie gewisse Farbstoffe, Metalle, Lecithin, Seife etc., besonders intensiv beeinflussen.

Ein derartiges Gift ist ein Stoff, welcher unter teilweiser Absorption das Milieu physikalisch verändert²⁾. Je giftiger der Stoff für das kolloidale Milieu ist, um so größer ist auch dessen Zustandsänderung bei Zusatz vergleichbarer kleiner Mengen. Für den Giftigkeitsgrad ist in erster Linie der betreffende Stoff entscheidend und erst in zweiter Linie das Milieu, sofern man nur auf dessen basische (kationische) oder saure (anionische) Eigenschaften Rücksicht nimmt. Gifte, welche basische Blutbestandteile vergiften, vergiften demnach auch im allgemeinen oder meist andere basische kolloidale Milieus, und dasselbe gilt für anionische Blutbestandteile und anionische Milieus. Blutgifte sind daher meist auch ganz allgemein Kolloidgifte.

Leider läßt die stalagmometrische Methode bei zahlreichen Milieus eine Prüfung nicht zu³⁾. Hierher gehören vor allem das Blutserum⁴⁾ selbst, ferner Eiweiß, Gelatine, Dextrin, Galle, Milch, Kaolin, Kohle, Blutkörperchen- und Bakterienemulsionen etc. Dennoch konnte obiger biologisch so überaus wichtige Satz mit Hilfe der Flockungsmethode auch hier bestätigt werden.

1) Vergl. meine demnächstige Mitteilung Zeitschr. f. Kolloide.

2) Die physikalische Giftwirkung auf ein nicht strukturiertes flüssiges Milieu kann auch bei Berührung mehrerer Phasen sich in Quellungserscheinungen offenbaren. Vergl. hierüber Fischer, Das Oedem, sowie Pribram, Kolloidchemische Beihefte, Dresden (Steinkopf). Selbstverständlich sollen auch chemische Giftwirkungen in manchen Fällen nicht geleugnet werden.

3) Vereinzelte Bestimmungen der Reibungskonstante mit Hilfe des Viskostagometers zeigten, daß voraussichtlich vielfach diese Konstante Milieuänderungen da anzeigt, wo die Oberflächenspannung im Stich läßt.

4) Aber es ist Aussicht vorhanden, auch hier zum Ziele zu gelangen. Versuche sind im Gange.

Nach den Versuchen von Hofmeister, Spiro, Höber, Porges, Pauli und von mir ist fast dieselbe Reihe der Salzionen (die Haftdruckreihe)¹⁾ maßgebend für die Flockung von Eiweiß, Lecithin und Farbstoffen. Nach meinen Versuchen wirken die Schwermetallsalze fast in der gleichen Reihenfolge flockend auf solche heterogene Milieus wie Porzellanerde, Galle und rote Blutkörperchen; nach Versuchen von Neisser und Friedemann, sowie Bechhold²⁾ haben wir eine ähnliche Reihenfolge der Flockbarkeit für Mastix und Bakterien, nach Hirschfeld³⁾ werden die roten Blutkörperchen verschiedenster Tiere, von verschiedenen Seris, ferner Abrin, Zinknitrat in einer Reihenfolge agglutiniert, die offenbar nur sekundäre Verschiebungen erleidet. Hat ein Stoff hervorragend flockende Eigenschaften, so behält derselbe diese Fähigkeit meist bei seinem Uebergang von einem zum anderen Milieu. So flockt Chinin in gleicher Weise Wollviolett, Lecithin, Galle, Kaolin, ja selbst das nicht kolloidale Milieu Pikrinsäure. Salvarsan flockt vortrefflich Blutserum, Wollviolett, Kaolin, Galle, Lecithin, Wittes Pepton etc.

Während es somit bei rein chemischen Reaktionen auf beide in Reaktion tretende Stoffe in gleicher Weise ankommt, ist bei den hier vorliegenden physikalischen Kolloidreaktionen zwar auch der anionische und kationische Charakter des Kolloids von großer Bedeutung, aber die sonstige chemische Natur desselben spielt nur eine sekundäre Rolle. Die Gültigkeit des obigen Annäherungsgesetzes bildet daher einen neuen Beweis, daß es sich bei diesen im übrigen ja auch nach nicht stöchiometrischen Verhältnissen verlaufenden Vorgängen nicht um chemische Reaktionen im engeren Sinne handelt. Da festgestellt wurde, daß man beispielsweise noch mit Hilfe der Tropfmethode die Wirkung von 1 Teil Quecksilberchlorid auf mindestens 6000 Teile gelösten Farbstoff (Nachtblau) nachweisen kann, so wird man auch aus diesem Grunde kaum an chemische Vorgänge glauben wollen, zumal stets nur ein Teil der wirksamen Stoffe sich mit dem Farbstoffe (durch Adsorption) vereinigt.

1) Siehe meine Arbeiten, Pflügers Archiv, l. c.

2) Vergl. Koranyi, Handb. physik. Chemie und Mediz., Bd. 2, 1908, p. 430.

3) Vergl. ebenda, p. 426 und 427.

Die bisherige Annahme, daß Anionen nur auf kolloidale Kationen wirken und umgekehrt, trifft übrigens allgemein insofern nicht zu, als die Kationen der Schwermetalle oft sehr erheblich kolloidale Milieus, wie Nachtblau und Platin, beeinflussen¹⁾. Indifferente Stoffe, wie Alkohol, Essigäther, Rohrzucker, wirken in geringeren Mengen überhaupt nicht auf die Farbstoffmilieus ein, eine Feststellung, die nach den verschiedensten Richtungen von Bedeutung ist.

Endlich seien noch die folgenden Versuche besonders hervorgehoben.

Wenn man ein mit geringen Mengen Sublimat vergiftetes Nachtblaumilieu einige Zeit sich selbst überläßt, so beobachtet man, wie in dem Maße, in welchem das Sublimat sich zersetzt, die Tropfenzahl zunimmt und sich mehr und mehr dem Zustande des reinen Nachtblaus nähert. Wir können diese Entgiftung des Milieus Nachtblau beschleunigen, wenn wir tropfenweise das Gegengift Jodkalium zusetzen. Nach dieser ultramikroskopischen Titriermethode²⁾ — die Lösungen bleiben dem Auge völlig durchsichtig — können wir das Gift in Form von ultramikroskopischen oder mikroskopischen Quecksilberiodid unschädlich oder wenigstens nahezu unschädlich machen (s. w. o.). In derselben Weise hat Hata³⁾, ohne allerdings eine hinreichende Erklärung dafür geben zu können, mit Sublimat vergiftete Fermentlösungen von Trypsin, Pepsin etc. mittelst Schwefelkalium wieder entgiftet, so daß die Fermente sich erholten, und Bredig hat (l. c.) eine Erholung des mit Blausäure vergifteten Platins festgestellt.

Ganz ebenso wurde von mir mit Alkaloiden, wie Cocain, Aconitin etc., vergiftetes Wollviolett sukzessive durch tropfenweisen Zusatz verdünnter Tanninlösungen in völlig durchsichtig bleibender Lösung völlig entgiftet. Hier sehen wir also unsere Annahme (s. o.) experimentell bestätigt, daß es keiner sichtbaren Fällung bedarf,

1) Es wäre noch zu überlegen, ob es nicht immer auf die Differenz der Wirkungen der beiden Ionen ankommt. Manches spricht dagegen, manches dafür. Ich werde später auf diese wichtige Frage zurückkommen.

2) Vergl. meine Mitteilung Ber. d. d. Chem. Ges., Bd. 44, 1911, p. 556.

3) Hata, Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 1909, p. 156.

damit ein Gift unwirksam wird, sondern daß ultramikroskopische und mikroskopische Fällungen genügen.

Auf die Einzelheiten dieser sehr allgemein anwendbaren Entgiftungsmethode werden wir im zweiten Teil dieser Abhandlung zurückkommen.

2. Die Wirkung der Toxine und Antitoxine.

Während nach der Theorie von Overton und Hans Meyer, sowie nach der umfassenderen eigenen Theorie¹⁾ die Wirkung der Narkotika schon längst auf physikalische Ursachen zurückgeführt wurde, glaube ich in dem vorhergehenden Abschnitte dieser Arbeit gezeigt zu haben, daß ganz allgemein auch für die übrigen Arzneimittel und Gifte physikalische Ursachen in den Vordergrund treten. Es soll selbstverständlich nicht behauptet werden, daß nicht chemische Vorgänge häufig mitwirken; so habe ich schon an anderer Stelle auf die Bedeutung der Tautomerie²⁾ hingewiesen, auch weiß man ja, daß vielfach im Organismus die eingeführten Gifte und Arzneimittel sich umsetzen, ferner, daß Fermente Zersetzungen hervorrufen, indessen der chemische Vorgang wird meist nur den physikalischen Vorgang auslösen, und man versteht nun erst, weshalb vielfach so — homöopathische — Giftmengen wirksam sind und weshalb viele Alkaloide und sonstige Gifte unzersetzt im Urin wiedergefunden werden.

Diejenigen, welche mir die Spezifizität der Wirkungen entgegenhalten und der Meinung sind, daß nur chemische Ursachen hier mitsprechen können, seien auf die Ausführungen im dritten Abschnitt dieser Arbeit verwiesen.

Während nun die Lehre von den gewöhnlichen Giften hiernach im wesentlichen ein physikalisches Gewand annehmen würde, lehrt uns die Seitenkettentheorie, daß die auf dem Immunitätsgebiete in Betracht kommenden Vorgänge auf chemische Ursachen zurückzuführen seien. Ich selbst habe mich nun schon vor 3 Jahren in einer Arbeit: „Zur Spezi-

1) Siehe meine demnächstige Abhandlung Pfügers Archiv, sowie Pfügers Arch., Bd. 132, l. c.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 396.

fizitätsfrage“¹⁾ gegen die chemischen Anschauungen auf dem Gebiete der Toxinlehre erklärt, und eine Reihe hervorragender und namhafter Forscher — ich nenne vor allem Zangger, V. Henri, Landsteiner, Weil u. a. — haben auf die Unzulänglichkeit der Seitenkettentheorie hingewiesen, und die Bedeutung physikalischer Anschauungen hervorgehoben²⁾).

Wie viel dringender werden nun aber alle diese Einwände gegen die in Deutschland herrschenden Auffassungen der Immunitätslehre, wenn man erfährt, daß die Wirkungen der gewöhnlichen Gifte nicht chemischer, sondern physikalischer Natur sind. Sollten für die Toxine und Antitoxine chemische Vorgänge maßgebend sein im Gegensatz zu den gewöhnlichen Giften? Um dieser Frage näherzutreten, beginnen wir mit den bekannten Ricinversuchen des Begründers der Seitenkettentheorie. Die Schlüsse, welche gezogen wurden, dürfen als bekannt vorausgesetzt werden. Indessen, es ist noch eine andere Auffassung möglich.

Ein Gift wird nicht nur dadurch ungiftig, daß es sich mit seinem Gegengift verbindet, sondern es wird (vergl. weiter oben) in dem Maße ungiftiger, als seine Teilchen sich ultramikroskopisch, mikroskopisch und okular sichtbar vergrößern. Ganz ebenso wie beispielsweise die Nachtblauteilchen unter dem Einfluß von Giften, wie KJ, HgCl₂ etc. sich vergrößern, und obwohl dem bloßen Auge nicht sichtbar, von einer gewissen Größe ab das Milieu Wasser nicht mehr beeinflussen, so wäre auch die Annahme möglich, daß die Ricinteilchen unter dem Einfluß des Antiricins sich aggregieren und dementsprechend ihre agglutinierende Wirkung auf kolloidale Milieus einbüßen. Diese Entgiftung des Ricins

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908.

2) In erster Linie nenne ich die hervorragenden Arbeiten von Prof. Zangger in Zürich, die eine weit größere Beachtung verdient hätten. Aber wer gegen den Strom schwimmt, kann nicht auf allzugroße Anerkennung rechnen. Man lese vor allem: Zangger, Vierteljahrszeitschr. d. Naturf. Ges. Zürich, Bd. 53, 1908, p. 408. Man wird darin eine ganze Fülle fruchtbarster Gedanken finden. Ich kenne keine Arbeit auf dem Immunitätsgebiete, die an theoretischer Bedeutung diese Arbeit Zanggers übertrifft.

durch Antiricin wird nun, auch wenn wir an Stelle der chemischen Bindung uns lediglich mit der Annahme einer Adsorption begnügen, proportional sein können der Menge des zugesetzten Antiricins, ebenso, wie wir fanden, daß die Vergiftungen der Farbstoffmilieus etc. durch die verschiedensten Gifte in großen Verdünnungen bis zu einem gewissen Prozentsatz des Giftzusatzes diesem Zusatze annähernd proportional waren. Auch die von Pauli u. a. untersuchten Flockungserscheinungen von Eiweißlösungen etc. verlaufen ja vielfach, zumal wenn wir an die der sichtbaren Flockung vorausgehenden, nicht sichtbaren Flockungen denken, der Konzentration der Salze proportional, und andererseits wirkt gerade die Spezifizität dieser Flockungen in bezug auf bestimmte, oft eng begrenzte Konzentrationsintervalle ein grelles Schlaglicht auf die Spezifizität mancher Immunitätsvorgänge.

Die Wirkung der Gifte auf die Farbstoffe ist aber keineswegs in allen Konzentrationen proportional dem Giftzusatze.

Folgende Tabelle ergibt die Wirkung von Cocainchlorhydrat auf 0,2-proz. Wollviolett, sowie von Tannin auf eine mit Cocainchlorhydrat vergiftete Wollviolettlösung.

Zusatz zu 10 ccm Wollviolett an Cocainchlorhydrat	Tropfen- zahl	Zusatz zu 10 ccm Wollviolett	Tropfen- zahl
0 Tropfen ¹⁾	55,55	1 Trpf. 2-proz. Coc.-Chlorhydr.	64,8
1 „ 0,2-proz.	56,35	dazu 1 Trpf. 0,4-proz. Tannin	63,7
5 „ 0,2 „	59,2	„ 2 „ 0,4 „ „	63,2
1 „ 2-proz.	64,8	„ 5 „ 0,4 „ „	61,95
2 „ 2 „	69,35	„ 10 „ 0,4 „ „	60,6
10 „ 2 „	71,7	„ noch 1 Trpf. 2-proz. Tannin	59,85
25 „ 2 „	72,0	„ „ 4 „ 2 „ „	58,2
		„ „ 5 „ 2 „ „	56,7
		„ „ 10 „ 2 „ „	55,4

Man erkennt, daß durch Zusatz von Cocainchlorhydrat²⁾ zunächst die Tropfenzahl zunimmt, mit wachsendem Zusatze des „Toxins“ Cocain, dann aber bei etwa 72 Tropfen ein Maximum der Wirkung erreicht. Entweder bleibt in diesem Falle bei weiterem Zusatze des Giftes die Tropfenzahl kon-

1) Ich bediente mich des von mir hergestellten T-K-Tropfglas.

2) Ähnlich ist der Kurvenverlauf für Aconitin, Coniin, Atropin etc.

stant, oder aber bei manchen Giften findet eine geringe Abnahme statt. Dieser Kurvenverlauf macht zunächst die vielfach gemachten Erfahrungen verständlich, daß es für die verschiedenen Heilmittel, Gifte und Toxine Optima der Wirkung gibt, und daß man oft eine weit intensivere Giftwirkung¹⁾ hervorruft durch sukzessive Verabreichung als durch einmalige Dosierung der gleichen Menge. Fügt man nun zu dem mit 1 Tropfen 2-proz. Cocain vergifteten Milieu (10 ccm) tropfenweise das Antitoxin Tannin in so verdünnter Lösung, daß in der Verbindung von Antitoxin-Toxin das gerbsaure Alkaloid ultramikroskopisch gelöst bleibt, so erkennt man an dem Rückgange der Tropfenzahlen die allmähliche Entgiftung des Farbstoffmilieus.

Fügen wir aber zu 10 ccm Farbstofflösung anstatt 1 Tropfen des Alkaloidsalzes mehrere Tropfen, so daß wir uns dem Maximum von 72 Tropfen nähern, so wird der erste tropfenweise bewirkte Zusatz des Antitoxins Tannin keine meßbare Entgiftung herbeiführen, ja es werden verschiedene Fälle vorkommen, wo die ersten Antitoxinmengen anstatt entgiftend, vergiftend wirken. Hätten wir es hier nicht mit klar definierbaren Verbindungen zu tun, so würden die Vertreter einer chemischen Hypothese die Bildung von Cocaintoxoiden zur Erklärung heranziehen, denen ähnliche hypothetische Eigenschaften zugeschrieben würden, wie beispielsweise den Toxoiden des Diphtheriegiftes. Für den Physiker dagegen liegen die Verhältnisse einfach. Ohne daß derselbe in gewissen Fällen die Möglichkeit tautomerer Umwandlungen leugnen will, wird er im allgemeinen, wenn er erfährt, daß kleine Antitoxinmengen oft anders wirken als mittlere oder große, hierin nur den Ausdruck für den Giftkurvenverlauf erblicken. Die Giftkurven sind eben keine geraden Linien.

1) So wirken 0,6 g Urethan nach Bürgi bei weitem nicht so narkotisch beim Kaninchen als $3 \times 0,2$ g, in Intervallen von 10–15 Minuten injiziert. Vergl. Fühner, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 4. Analoges gilt für die Atoxylwirkung nach Blumenthal, Biochem. Zeitschr., Bd. 28, 1910, p. 91; D. med. Wochenschr., 8. Dez. 1910.

Ein Zusatz von 10 Tropfen $\frac{1}{40}$ aeq. Sublimatlösung zu 10 ccm 0,2-proz. Nachtblaulösung erniedrigte die Tropfenzahl von etwa 58 auf 45,5 Tropfen. Fügt man nun tropfenweise das Antitoxin Jodkalium hinzu, so daß sich gelöstes Chlorkalium und die ultramikroskopisch ausgeschiedene Toxin-Antitoxinverbindung Quecksilberjodid bildet, so erfolgt eine allmähliche Entgiftung. Indessen die ersten beiden Tropfen zugesetzter $\frac{1}{20}$ n. Jodkaliumlösung wirkten aus den oben angegebenen Gründen so gut wie gar nicht, die Tropfenzahlen waren 46,2 und 46,1; beim 3. und 4. Tropfen stieg die Tropfenzahl auf 48,25 und 52,05 und beim 5. Tropfen $\frac{1}{20}$ n. KJ-Zusatz war die Entgiftung mit 54,2 Tropfen nahezu vollkommen, denn da sich Chlorkalium gleichzeitig bildet und 5 Tropfen $\frac{1}{20}$ n. HCl, zu 10 ccm Nachtblaulösung gesetzt, die Tropfenzahl von 58,2 auf 55,2 verminderte¹⁾, so ist ein weiteres Steigen der Tropfenzahl nicht zu erwarten und man versteht es, daß wegen der beginnenden Jodvergiftung der 7. und 8. Tropfen $\frac{1}{20}$ n. KJ-Lösung zu den Tropfenzahlen 51,05 und 50,2 führt. Der 10. Tropfen Jodkaliumzusatz führt zu der Tropfenzahl 49,9. Es ist dieses die Tropfenzahl des Wassers.

Die Lösung ist zwar noch klar und durchsichtig, aber der Farbstoff ist bereits soweit ultramikroskopisch und mikroskopisch aggregiert, daß ein geringer weiterer Jodkaliumzusatz genügt, um die Flockung sichtbar zu machen. Diese Kolloidpräzipitation ist spezifisch.

Es handelt sich hierbei um ein typisches Beispiel. Wie Jodkaliumlösungen, so verhalten sich beispielsweise Lösungen von Rhodankalium, Kaliumperchlorat, ferner Silbernitrat, Cadmiumjodid, Quecksilberchlorid, auch Lösungen von Wollviolett in Nachtblau etc. Impft man die Nachtblaulösung tropfenweise mit verdünnten Lösungen jener Zusätze, so tritt (beispielsweise bei Zusatz von 1 Tropfen $\frac{1}{2}$ n. CdJ₂ zu 10 ccm 0,2-proz. Nachtblau) ein Zustand ein, wo die völlig durchsichtige, aber doch bereits zweiphasige Lösung sich in einem gewissen Spannungszustande befindet und in bezug auf verschiedenste physikalische Eigenschaften wie Wasser verhält.

1) Die geringe Differenz von 54,2 und 55,2 ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß das ultramikroskopisch gelöste Quecksilberjodid nicht ganz so ungiftig ist, wie das sichtbar ausgeschiedene.

In diesem Punkt genügt der weitere Zusatz eines weiteren Tropfens derselben Lösung, um eine sichtbare Präzipitation hervorzubringen¹⁾. Man wird hier geradezu an die spezifische Präzipitation und auch an die Anaphylaxie²⁾ erinnert, wenn auch eine völlige Analogie nicht bestehen kann, da die in beiden Fällen zur Impfung verwandten Stoffe so verschiedenartig sind.

Durchmustern wir nun vom Standpunkte der hier angewandten physikalischen Hypothesen das ganze große Immunitätsgebiet, so wird es nicht schwer sein, die große Ueberlegenheit dieser Anschauungen über die chemischen Anschauungen einzusehen. Es ist mir auch nicht eine Tatsache aufgefallen, die sich nicht in ungezwungener Weise physikalisch deuten ließe³⁾, auch in allen denjenigen Fällen, wo die chemische Hypothese überhaupt versagte, oder erst schmackhaft zugerichtet werden mußte, um sich den Tatsachen einigermaßen anzupassen.

Wir sehen zunächst, wie zur Antikörperbildung nur kolloidale Stoffe befähigt sind, diese aber recht allgemein, denn selbst Gelatine und Gummi arabicum erzeugen gewisse Antikörper; Alkaloid-, Arsenverbindungen etc. erzeugen zwar spezifische Veränderungen im Organismus, — der Körper gewöhnt sich an die Gifte — aber spezifische Sera gegen die Wirkung dieser Gifte sind nicht erhältlich.

Alle diese Tatsachen werden sofort klar, wenn wir daran denken, daß lediglich die Kolloide die Fähigkeit haben, auch in Lösungen zu größeren Komplexen zusammenzutreten, Alkaloide und Arsensalze sind hierzu nicht befähigt. Man kann daher mit ihnen zwar eine Vergiftung des Organismus herbeiführen — man begreift die Morphinumgewöhnung, die Atoxyloffestigkeit — aber wie soll man mit den so gebildeten

1) Zuweilen findet ein plötzlicher Spannungsabfall statt, so beim Milieu Nachtblau und Zusatz von Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure; näheres an anderer Stelle.

2) Sollten bei den anaphylaktischen Vorgängen, was mir keineswegs sicher erscheint, chemische Vorgänge, wie Abbau von Eiweißstoffen, mit in Betracht kommen, so ist es mir doch andererseits unzweifelhaft, daß gerade auch hier die physikalischen Vorgänge die Hauptrolle spielen.

3) Vergl. auch Zangger, l. c. und V. Henry, Sémaine médic.

Stoffen des auf Morphinum oder Atoxyl eingestellten Organismus das Morphinum oder Atoxyl unschädlich machen, da ja beiden Stoffen die Fähigkeit der Micellenbildung fehlt?

Wenn wir in der Lehre von den gewöhnlichen Giften erfahren, daß es bei der Kurarewirkung der Verbindungen quaternärer Basen auf die Nervenendplatten gleichgültig ist, ob es sich um Verbindungen von Stickstoff, Phosphor, Arsen oder Antimon handelt, so sollten wir uns die Frage vorlegen, ob hier chemische Anschauungen als ausreichend angesehen werden können. Wie viel mehr hat aber diese Frage in der Toxinlehre Berechtigung, wenn wir erfahren, daß es in bezug auf die Spezifität der Wirkungen gleichgültig ist, ob ein Globulin-, ein Kasein- oder sonst irgendwelches Kolloidderivat des betreffenden Organismus vorliegt! Die chemische Natur der Stoffe ist eben in bezug auf die Spezifitätserscheinungen jedweder Art völlig gleichgültig, nur der physikalische Zustand ist es, auf welchen es ankommt.

Es zeigt sich, daß die geringsten physikalischen Zustandsänderungen genügen, um beispielsweise ein Antigen, ein Komplement unwirksam zu machen.

Ein bloßes Schütteln genügt nach M. Ascoli¹⁾, um die labilen Meistagminantigene zu zerstören, und nach Jacoby und Schütze²⁾ werden durch den gleichen Vorgang die Meerschweinchenkomplemente inaktiviert. Würden selbst hierbei sichtbare Ausscheidungen nicht beobachtet, so könnte man sich die Wirkungen des Schüttelns kaum anders als unter dem Bilde einer ultramikroskopischen und mikroskopischen Flockung vorstellen. Nach Landsteiner³⁾ genügt eine einfache Abkühlung eines Serums, um seine eigenen Blutkörperchen zu flocken, und eine Temperaturerhöhung auf 37° macht die physikalische Reaktion rückgängig. Eine Temperaturerhöhung verstärkt nach Jacoby und Schütze (l. c.) die Wirkung des Schüttelns. Temperaturerhöhungen wirken — das ist jedem Farbstoffchemiker bekannt — haftlockernd in

1) M. Ascoli nach Privatmitteilungen.

2) Jacoby und Schütze, *Diese Zeitschr.*, Bd. 4, 1910, p. 730.

3) Landsteiner, *Koranyis Handb. d. physik. Chemie u. Medizin*, Bd. 2, 1908, p. 426.

Bezug auf die Affinität von Farbstoff und Wasser, der Farbstoff wird ultramikroskopisch und dann sichtbar aggregiert, wie man durch Erwärmung von Salzlösungen (0,85-proz. NaCl-Lösung), welche mit geringen und wechselnden Mengen von Nachtblau versetzt wurden, leicht sukzessive verfolgen kann ¹⁾. Ganz ebenso werden die Serumbestandteile aggregiert und die Wirkung der sogenannten Inaktivierungstemperatur auf die Komplemente ist im wesentlichen nichts anderes als ihre Unwirksammachung durch Aggregation. So beobachtete M. A. Mayer ²⁾ mit Hilfe des Ultramikroskops, daß beim Erhitzen der Sera die kleinen Teilchen zu zweien und zu dreien zusammentreten, und damit im engsten Zusammenhange steht die von Henry und Cernovodeanu ³⁾ gefundene Tatsache, daß im Serum von 56° kolloidales Eisenoxydhydrat weit stärkere Fällungen hervorbringt als im aktiven Serum. Der Haftdruck der Eiweißteilchen ist eben wegen der größeren Aggregation im erhitzten Serum gelockert. Von mir ⁴⁾ wurde festgestellt, daß dem inaktivierten Serum eine wesentlich geringere Oberflächenspannung (größere Tropfenzahl) zukommt als dem aktiven Serum, und daß ein Zusatz von geringen Mengen aktivem — komplementhaltigem — Serum allmählich die Oberflächenspannung wieder auf den Normalzustand zurückführt. Das zerstörte Komplement wird durch Desaggregation wieder aktiv, und wenn Meerschweinchen Serum sich hierbei besonders auszeichnet, so hängt dies offenbar mit dem Umstande zusammen, daß diesem Serum von allen Seris ⁵⁾ die geringsten flockenden, aber stärksten entflockenden Eigenschaften zukommen. Zahlreiche Ablenkungserscheinungen des Komplements werden hiernach leicht verständlich ⁶⁾.

1) Sehr charakteristisch in Hinsicht auf die physikalische Theorie der Immunität sind auch die Beobachtungen von Schmidt, Bioch. Zeitschr., Jahrg. 1909, wonach die präzipitierenden Antikörper, welche erhitztes Eiweiß hervorbringt, für dieses spezifischer sind als für das nicht erhitzte Eiweiß. Nur Aggregationen dürften diese Verschiedenheit bedingen.

2) M. A. Mayer, Soc. Biol., 6. und 20. Juli 1907.

3) Henry und Cernovodeanu, ebenda, 20. Mai 1905.

4) Traube, Zeitschr. f. Biochem., Bd. 10, 1908, p. 380.

5) Vergl. Tabelle über die agglutinierende Wirkung der Sera nach Hirschfeld, Koranyis Handb. Physik, Chemie u. Med., Bd. 2, 1908, p. 427.

6) Vergl. über Komplementauffassung Zangger, l. c., p. 422.

Hessberg¹⁾ hat beobachtet, daß, wenn man den alkoholischen Extrakt von syphilitischen Lebern langsam zu physiologischer Kochsalzlösung setzt, Trübungen eintreten, die beim schnellen Vermischen vermieden werden. Im ersteren Falle erfolgt eine Ablenkung des Komplements, im letzteren nicht. Hier sieht man geradezu, wie die Größe der Aggregate die Immunitätsreaktionen beeinflußt, und man erkennt auch ohne weiteres die Ursache des Danyszschen Phänomens. Diese Beobachtung von Danysz beruht eben lediglich darauf, daß beim partiellen Vermischen die Aggregation des Antitoxins eine größere ist.

Wir sahen, daß die geringe mechanische Kraft des Schüttelns, ebenso eine Temperaturänderung genügt, um Aggregationen der Toxine, Antikörper etc. herbeizuführen, aber es genügt auch eine einfache Konzentrationsänderung, um dieselbe Menge des Komplements wirksamer oder weniger wirksam zu machen, oder um ein Toxin, beispielsweise das Tetanustoxin²⁾, in seiner Giftwirkung zu verstärken. Die physikalische Theorie läßt derartige Beobachtungen voraussehen, denn die physikalisch-chemischen Anschauungen führen ja zu dem Ergebnisse, daß die Aggregation der Teilchen mit der Konzentration der Lösungen sich ändert, und es erschien daher nicht wunderbar, als durch die ultramikroskopischen Arbeiten von Raehlmann³⁾ u. a. diese Annahmen experimentell bestätigt wurden, indem sich beispielsweise zeigte, daß beim Verdünnen eines mit Kochsalz versetzten Serums eine Menge neuer Teilchen aufleuchteten.

Auch daß selbst geringfügigste Salzzusätze eine bedeutende Wirkung ausüben müssen auf die verschiedenartigsten Vorgänge [Wirkung der Agglutinine, Alexine⁴⁾, Wirkung von Ammonsulfat auf Tetanustoxin⁵⁾, auf die Meio-stagmine⁶⁾, auf Fermentlösungen⁷⁾], wird leicht verständlich,

1) Hessberg, Biochem. Zeitschr., Bd. 20, 1909, p. 360.

2) Behring fand (vergl. Jacoby, Immunität und Disposition, Wiesbaden 1906), daß ein Gemisch von Tetanustoxin und Antitoxin, wenn letzteres in unzureichender Menge vorhanden ist, beim Verdünnen mit Wasser an Giftigkeit zunehmen kann.

3) Raehlmann, vergl. l. c.

4) und 5) Jacoby, l. c. p. 52 und 34.

6) Izar, Biochem. Zeitschr., Bd. 28, 1910.

7) Starkenstein, Biochem. Zeitschr., Bd. 24, p. 210.

denn Salzionen wirken je nachdem aggregierend oder, wenn auch seltener, desaggregierend, haftlockernd etc.

Man versteht die Optima der Giftwirkung, die Wirkung der Anti-Antikörper, die Möglichkeit der Immunisierung mit einem neutralen Toxin-Antitoxingemisch, die Wirkung kleiner und großer Antitoxinmengen, vor allem aber die so mannigfache Veränderlichkeit der Gifte in und außerhalb des Organismus. Wenn auch, wie bereits erwähnt wurde, keineswegs behauptet werden soll, daß nicht in manchen Fällen fermentative Zersetzungen, sowie andere chemische Umwandlungen, insbesondere tautomerer Art, mitwirken, so werden doch im allgemeinen alle die Komplikationen entbehrlich, welche die chemische Theorie durch die Annahme von Toxoiden, Toxonen, Protoxoiden, Epitoxonoiden, Komplementoiden, Ambozeptoiden etc. zu machen genötigt ist.

Welche Schwierigkeiten erwachsen ferner der chemischen Theorie aus den schönen Arbeiten von Weil¹⁾ und Spät²⁾. Gelöste Bakterienextrakte, welchen ebenso wie den Bakterien selbst die Fähigkeit zukommt, im Tierkörper Antistoffe hervorzubringen, verhalten sich doch in bezug auf ihr Bindungsvermögen ganz anders. Die Bakterien binden, und ihren Extraktivstoffen fehlt jede Fähigkeit. Es fehlen hier „die haptophoren Gruppen“. Erst in dem Maße, wie ein Präzipitat sich vergrößert (siehe oben Hessberg und Danysz), erlangt es mehr und mehr die Fähigkeit, einen Immunkörper physikalisch zu binden. Dabei brauchen die Präzipitate noch nicht sichtbar zu sein, wenn sie nur ultramikroskopisch genügend groß sind³⁾. Wie einfach findet sich die physikalische Theorie mit diesen Tatsachen ab!

Daß in einem normalen Serum Agglutinine, Präzipitine etc. der verschiedensten Art vorkommen können, daß bei der Mannigfaltigkeit der Serumbestandteile bei der Immunisierung sich auch Antikörper der verschiedensten Art bilden müssen, von denen die einen agglutinierend oder präzipitierend, die

1) Weil, Biochem. Zeitschr., Bd. 24, p. 219.

2) Spät, Biochem. Zeitschr., Bd. 29, 1910, p. 453; siehe daselbst die weitere Literatur.

3) Siehe Weil, l. c. Bd. 5, p. 235.

anderen lysierend wirken, ergibt sich von selbst; ebenso werden im allgemeinen die Lysine nicht identisch sein mit den Agglutininen und Präzipitinen, da auch bei den Alkaloiden die flockenden Alkaloide am wenigsten lytische Eigenschaften haben und umgekehrt.

Während endlich die chemische Theorie gescheitert ist bei ihren Bestrebungen, eine einheitliche Auffassung herbeizuführen auch nur in bezug auf die Wirkung der Toxine und Fermente, sehen wir, wie die physikalische Theorie die anscheinend heterogensten Erscheinungen einheitlich zusammenfaßt, mag es sich um die gewöhnlichen Gifte oder die Toxine, um Fermente, um Präzipitine oder Agglutinine handeln.

Was wir bei der Agglutination und bei der Präzipitation mit unbewaffnetem Auge sehen, was wir mikroskopisch und ultramikroskopisch vielfach auch da erkennen können, wo das Auge im Stich läßt: die Vorgänge der kolloidalen Aggregation und Desaggregation, verbunden mit Adsorptionsercheinungen, das betrachten wir als die Quintessenz der Immunisationsvorgänge. Es ist falsch, anzunehmen, daß ein Gift erst dann aufhört, giftig zu wirken in bezug auf ein bestimmtes Milieu, wenn seine Ausscheidung dem Auge sichtbar wird, sondern es verliert bereits vorher seine giftigen Eigenschaften, und zwar in dem Maße, in welchem es sich ultramikroskopisch und mikroskopisch aggregiert.

3. Ueber die Ursache der Spezifität. Resonanztheorie.

Alle Ausführungen im vorhergehenden Teile unserer Mitteilung würden nicht genügen, unserer Theorie Anhänger zu verschaffen, wenn es uns nicht gelänge, für das wichtigste Problem der Immunitätslehre, die Ursache der Spezifitätserscheinungen, eine ausreichende Antwort zu finden.

Die Seitenkettentheorie hat eine solche Antwort zu geben versucht; indessen die Zahl derer, welche von dieser Antwort befriedigt waren, dürfte doch zurzeit sehr im Abnehmen begriffen sein. Ich selbst habe in meiner Arbeit: Zur Spezifitäts-

frage¹⁾ schon vor fast 3 Jahren zu dieser Frage Stellung genommen, und ich freue mich, das, was damals gesagt wurde, voll und ganz aufrechterhalten zu können. Wünschenswert ist es nur, etwas tiefer in die betreffende Materie einzudringen, und das möge hier versucht werden.

Wir betrachten das System: Blut, und zwar normales Blut. Nach den Anschauungen, die wohl jeder Physikochemiker mit mir teilt, handelt es sich hier um ein mehrphasiges System, bestehend aus den verschiedensten Stoffen und Zellen, an deren Grenzfläche zum Wasser Oberflächenkräfte elektrischer und vielleicht auch nicht elektrischer Art wirksam sind. Die Frage nach der Natur dieser Kräfte, nach den Beziehungen von Oberflächenspannungen und elektrischen Kräften²⁾ wollen wir hier offen lassen; uns interessiert hier nur der Umstand, daß in einem solchen im Gleichgewicht befindlichen System offenbar jene Oberflächenkräfte abstoßend wirken, und damit die Berührung und die Möglichkeit von Flockungen und Agglutinationen ausschließen. Wird beispielsweise angenommen, die gleichartigen Teilchen der Stoffe derselben Art hätten gleichartige elektrische Ladungen auf ihrer Oberfläche, so ergibt sich ja die Abstoßung von selbst; auch können diese Abstoßungen³⁾ sehr anschaulich gemacht werden dadurch, daß wir das bei der Tunkpapierfabrikation übliche Färbeverfahren nachahmen, indem auf einen glatten pflanzenschleimigen Untergrund Farbstofftropfen aufgespritzt werden, denen etwas Galle oder dergleichen zugesetzt wurde. Es wird nie gelingen, zwei derartige Tropfen zur Berührung oder Verschmelzung zu bringen, obwohl dieselben häufig bei ihrer Ausbreitung bis auf Hundertstel-Millimeter einander nahekommen.

Die schönen ultramikroskopischen Beobachtungen von Raehlmann⁴⁾ u. a. lehren uns nun ferner, daß in einem derartigen System die chemisch gleichartigen Teile auch vielfach sich durch gleiche Größe und Beschaffenheit auszeichnen,

1) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 396.

2) Vergl. darüber meine demnächstige Mitteilung, Pflügers Archiv.

3) Siehe die Figur in meiner zitierten Abhandlung: Zur Spezifitätsfrage.

4) l. c., siehe besonders Physik. Zeitschr., Bd. 4, l. c.

was ja, wenn das System im Gleichgewichte ist, auch nicht weiter auffallen kann¹⁾).

Nehmen wir nun mit einem derartigen Systeme irgendwelche Veränderung vor, kühlen wir das Serum ab, so wird das Gleichgewicht gestört, die Blutkörperchen agglutinieren²⁾, erhitzen wir ein Serum, so treten hier Amikronen zu zweien und zu dreien zusammen³⁾, verdünnen wir das Serum, so ändert sich die Zahl der Amikronen, fügen wir Salze hinzu, so zeigt sich, wie unter dem Ultramikroskop neue Aggregate aufleuchten; entweder wir beobachten alsdann bei Anwendung gewisser Salze eine große Anzahl feinkörniger gleichmäßiger Teilchen, oder wir sehen bei anderen Salzen, wie sich die Teilchen zu zweien, zu dreien oder zu größeren Gruppen vereinigen. Für jeden zugesetzten Stoff sind bestimmte Molekularkomplexe typisch⁴⁾. Das Gleichgewicht wird in bestimmter, für den Stoff spezifischen Weise geändert, und wie zahlreich die ultramikroskopischen Aenderungen eines kolloidalen Milieus sein können, wie verschieden groß die ultramikroskopischen Aggregate eines Kolloids, das lehren uns ja, wie bereits erwähnt wurde, zur Genüge die älteren und wohlbekannten Messungen Zsigmondis, betreffend das Milieu: Goldlösung.

Nun wissen wir auch, was vor sich geht und vor sich gehen muß, wenn in das Blut eines lebenden Tieres ein fremder Stoff eingespritzt wird, etwa fremdes Eiweiß, ein fremdes Blutkörperchen, ein Krankheitsstoff. Mag die Menge auch noch so klein sein, dort, wohin der Störenfried gelangt,

1) Raehlmann (vergl. Physik. Zeitschr., l. c.) weist besonders hin auf die Gleichheit der Abstände der Teilchen und auf die daraus zu folgernden abstoßenden elektrostatischen Kräfte. Für jeden Stoff sind ganz bestimmte Molekularbewegungen charakteristisch, die bei verschiedenen Stoffen sehr verschieden sein können. Interessant sind auch die von ihm und anderen beobachteten Kolloidumhüllungen.

2) Vergl. Landsteiner, l. c.

3) Mayer, l. c.

4) Es soll hiermit keineswegs gesagt sein, daß sämtliche Teilchen genau gleich groß sind. Das ist sicher vielfach nicht der Fall. Auch die etwa vorhandene Struktur der Aggregate dürfte verschieden sein. Aber das, worauf es ankommt, ist das Potential, und hier ist sicherlich eine Abstimmung vorhanden.

muß eine Aenderung des Gleichgewichts eintreten; kaleidoskopartig werden sich die Teilchen verschieben. Wir konnten ja im ersten Teile dieser Abhandlung mit Hilfe des Stalagmometers die physikalischen Vorgänge messend verfolgen, welche sich abspielten etwa in einer Farbstofflösung, wenn wir derselben $\frac{1}{3\,000\,000}$ Teile Sublimat oder Cocain einimpften. Können uns da die immunisatorischen Vorgänge noch besonders wunderbar erscheinen? Selbst wenn die Empfindlichkeit noch etwas größer ist? Man könnte einwenden, daß zwischen Quecksilbersalz und Farbstoff leichter Wechselwirkungen denkbar seien als zwischen Eiweiß und Eiweiß, über dessen chemische Identität oder Verschiedenheit uns noch so wenig bekannt ist. Indessen denken wir an einen alten Versuch Ostwalds:

Wir haben eine Anzahl völlig gleich großer Körnchen roten Quecksilberoxyds nebeneinander liegen. Das System ist völlig im Gleichgewicht. Wir fügen nun einige gröbere Körner desselben Quecksilberoxyds hinzu, und wir sehen alsbald, wie infolge der Oberflächenspannungsdifferenzen die Größenverhältnisse sich ändern.

Es wäre hiernach sehr wohl denkbar, daß das sogenannte artfremde Eiweiß häufig chemisch identisch, aber physikalisch, beispielsweise in bezug auf sein Potential oder die Zahl der auf seiner Oberfläche wirksamen Elektrizitätsquanten, verschieden wäre, dann werden Milieuänderungen im fremden Blut eintreten müssen, die nicht minder spezifisch oder noch spezifischer sind als die Aenderungen des Farbstoffmilieus durch bestimmte Salzionen oder andere Kolloide¹⁾.

Es wird hiernach verständlich sein, daß beim Einspritzen irgendeines Fremdkörpers in ein kolloidales Milieu mehr oder weniger große Aenderungen der Kolloide vor sich gehen, welche in erster Linie vom Fremdkörper abhängig sind, wir verstehen auch, wie in einem so gemischten Milieu wie dem Blutplasma diese Aenderungen sich auf die verschiedensten Bestandteile, wie Eiweiß, Lecithin etc. erstrecken müssen, und dadurch die Chance zur Bildung spezifischer Agglutinine, Präzipitine, Lysine etc. gegeben ist, aber die Fragen sind noch zu beantworten, wie müssen die Milieuänderungen beschaffen

1) Vergl. oben, erster und zweiter Teil dieser Abhandlung.

sein, damit die bestimmte Spezifizität der Wirkungen eintritt, und woher kommt es, daß das Antigen die Kolloidteilchen gerade so verändert, daß dieselben nun eine Spezifizität der Wirkungen entfalten.

Wenn wir alkalisches Eiweiß in einem elektrischen Felde wandern lassen, so läßt sich die Richtung der Wanderung durch Zuführung eines Ueberschusses von Säure umkehren. Wenn dagegen allmählich sehr kleine Säuremengen zugefügt werden, so gelangen wir bei Zuführung einer ganz bestimmten Säuremenge zu einem Punkte — dem isoelektrischen Punkte — welcher dadurch charakterisiert ist, daß das ganze Eiweiß ausgeflockt wird.

Es handelt sich auch hier um einen Spezifizitätspunkt, um eine spezifische Präzipitation, welche nur dann eintritt, wenn die zugeführten elektronegativen Ladungen den elektropositiven Ladungen genau entsprechen. Ein Ueberschuß an Ladungen nach der einen oder nach der anderen Richtung bringt die Flockung zum Verschwinden.

Wir betrachten ferner eine Eiweißlösung, welcher wir ein Alkalisalz zuführen, oder die Lösung eines basischen Farbstoffes, welche mit einem sauren Farbstoffe versetzt wird. Wir erkennen, daß innerhalb ganz bestimmter, oft sehr eng begrenzter Konzentrationen, aber auch nur dann, Flockungen herbeigeführt werden können. Es handelt sich auch hier um eine Spezifizität der Konzentrationen, und zwar sind diese Flockungszonen dadurch charakterisiert, daß eine ganz bestimmte Abstimmung der Elektrizitätsquantität von Salz und Eiweiß oder Farbstoff und Farbstoff angenommen wird. Nur wenn die Oberflächenkräfte (oder elektrischen Kräfte) von Salz und Wasser, sowie andererseits Eiweiß und Wasser etc. in umgekehrtem Verhältnisse zu den relativen Mengen stehen, erfolgt die Flockung.

Uebertragen wir nun diese Beobachtungen auf die spezifischen Vorgänge der Antigenwirkung, so gibt es nur eine Deutung:

Die Spezifizität der Vorgänge auf dem Gebiete der Immunität beruht nicht auf dem Vorhandensein von haptaphoren Gruppen oder sonstigen chemischen Ursachen, sondern lediglich

auf einer durch die Wirkung des Antigens herbeigeführten physikalischen Abstimmung der Oberflächenkräfte.

Nicht Affinitätskräfte kommen hier in Betracht, welche das Antigen mit spezifischen Rezeptoren verankern, denn gerade auf der Freiheit der Bewegungen des Antigens im Tierkörper beruht die Möglichkeit, Spezifitätsgebilde zu schaffen, die Kräfte, welche hier wirken, sind Kohäsionskräfte bzw. elektrische Kräfte. Wie eine Stimmgabel durch Resonanz auf eine andere abgestimmt ist oder eine elektromagnetische Welle Resonanzerscheinungen auslöst¹⁾, so sehen wir hier aufeinander abgestimmte Moleküle und Molekular-komplexe²⁾.

1) Das Bild von E. Fischer, wonach die Abstimmung bei den fermentativen Vorgängen vergleichbar ist dem Schlüssel zum Schlüsselloch, entspricht einer chemischen Anschauungsweise und ist daher zu verwerfen.

2) Ansichten, die den hier ausgesprochenen verwandt sind, wenn sie sich auch nur auf engbegrenzte Gebiete beziehen, sind von verschiedenen Seiten ausgesprochen worden. So nimmt bereits Billitzer (Zeitschr. phys. Chem., Bd. 51, 1905, p. 140 und 158) in bezug auf die gegenseitige Flockung von Kolloiden mit Recht an, daß die Fällung am vollständigsten ist, wenn das Mengenverhältnis der einzelnen Kolloide in der Mischung im umgekehrten Verhältnisse der elektrischen Ladungen steht, welche die einzelnen Kolloide tragen sollen.

Barendrecht (Zeitschr. phys. Chemie, Bd. 49, 1904, p. 456) faßt die Wirkung der Fermente als strahlenartige Wirkungen auf, und wenn auch Arrhenius diese Ansicht in seiner Immunchemie als sonderbar bezeichnet, so glaube ich, daß Barendrecht Recht hat. Aehnliche Anschauungen entwickelt Körösy (Pflügers Arch., Bd. 137, 1910, p. 123; vgl. Chem. Centralbl., Bd. 1, 1911, p. 115).

Bemerkenswert sind auch die Ansichten von Skraup (vgl. Bredig, Zeitschr. phys. Chemie, Bd. 31, 1899, p. 344), welcher in Anlehnung an eine Hypothese zur Erklärung der Enzymwirkungen von Nägeli in bezug auf die Ursache katalytischer Prozesse, wie die Umwandlung von Maleinsäure in Fumarsäure, folgendes sagt: „Es besitzen die erwähnten Verhältnisse eine gewisse Aehnlichkeit mit den Erscheinungen der Resonanz oder auch denen der Influenz, und in rohen Umrissen trifft vielleicht das Bild zu: bei manchen chemischen Prozessen entstehen Schwingungen, die imstande sind, in anderen Molekülen, welche im gewöhnlichen Sinne chemisch unbeteiligt sind, wieder Schwingungen zu erzeugen, welche dann, sei es für sich, sei es unterstützt durch andere Momente, wie Wärmeschwingungen, eine totale Aenderung in der Struktur herbeiführen.“

Auch die Ansichten von Bunsen über Katalyse vgl. bei Bredig, l. c.

Ein Antigen ist ein Ferment, welches abgestimmte Moleküle hervorbringt — Molekular-komplexe —, deren Energiequantenzahl¹⁾ in einem solchen Verhältnisse steht zu der Energiequantenzahl auf der Oberfläche der Antigen-
teilchen, daß namentlich bei geeigneten Mengen-verhältnissen (Optimis) der Mischung Präzipitationen, Agglutinationen etc. in analoger Weise erfolgen, wie bei der Mischung entgegengesetzt geladener Kolloide. Wie das Antigen diese Abstimmung hervorbringt, darüber sind nur Vermutungen möglich, indessen wir können uns auch hiervon ein anschauliches Bild machen, wenn wir an gewisse fundamentale Versuche der Elektrizitätslehre denken. Vergleichen wir die entgegengesetzt geladenen Teilchen in einer Lösung mit kleinen Kondensatorenplatten, welche eine bestimmte Ladung tragen, so wird jede Erhöhung der Ladung eines solchen Kondensatorenplättchens influenzierend wirken auf die Ladungen der anderen Platten, und in dem vorliegenden Falle werden die kleinen elektrostatischen Systeme sich so anordnen, daß die Summe ihrer Ladungen der Ladung des Erregers (des Antigens) entspricht. Das Antigenteilchen — entspricht es auch nur einem Millionstel Milligramm — sorgt für das Gefälle, welches vorher in dem im Gleichgewicht befindlichen Systeme nicht vorhanden war.

Ein Ferment ist kein Katalysator im Sinne Ostwalds, wie überhaupt diese Katalysatorentheorie keinen Fortschritt, sondern einen Rückschritt der Wissenschaft herbeigeführt hat. Es wäre endlich Zeit, gegen diese unhaltbare Theorie Front zu machen.

Ein Ferment ist kein Beschleuniger, sondern es schafft neue Werte. Es beschleunigt nicht eine Flockung, sondern es führt dieselbe herbei; es kann Wirkungen entfalten, wie der Funke, der in einem Pulverfasse zündet. Nicht die chemische Natur ist es, auf welche es bei der Fermentwirkung ankommt, sondern lediglich die Energiequantenzahl an der Oberfläche,

1) An Stelle dieser aus der Elektronenlehre entlehnten Anschauungen können wir natürlich auch von Kraftlinien etc. reden.

die Zahl der Kraftlinien ist maßgebend. Die verschiedensten Fermente könnten chemisch völlig identisch sein, und doch wirkt das eine auf diese, das andere auf jene Stoffe. Auch hier haben wir nichts als Resonanzerscheinungen.

Wenn 1 Tropfen einer fremden Substanz 2 andere Tropfen, die sich abstoßend auf einer Pflanzenschleimfläche nebeneinander befinden, zur Vereinigung bringt, oder wenn bei Pfeffers chemotropischen Versuchen die Gegenwart gewisser Stoffe Sperma und Eizelle sich verbinden läßt, oder wenn die Leukocyten bestimmte Bakterien verzehren und andere verschonen, so sehen wir hierin nichts anderes als Abbilder gewisser fermentativer Vorgänge.

Nur vom Standpunkte dieser Anschauungen sind die Wirkungen der Milieuänderung¹⁾, der Salze²⁾, der Gifte³⁾, die Optimalwirkungen und so manches andere zu verstehen. Es können Fermente (durch Sublimat) vergiftet und wieder entgiftet⁴⁾ werden, gerade so wie eine Farbstofflösung, sofern wir eine Aggregation des Fermentes herbeiführen, oder dieselbe durch ein in ultramikroskopischem Sinne flockend wirkendes Gegengift wieder rückgängig machen.

Die physikalische Theorie der Immunität ist somit imstande, ein weit umfassendes Gebiet von Vorgängen auf einheitlicher Grundlage miteinander zu verknüpfen. Sie darf den Anspruch erheben, der chemischen Theorie in mannigfaltigster Hinsicht weit überlegen zu sein.

Zusammenfassung.

Im ersten Teile dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die gewöhnlichen Blut- und Protoplasmagifte (Schwermetallsalze, Alkaloide etc.) in erster Linie nicht chemisch, sondern physikalisch wirken, indem dieselben die Kolloidbestandteile (von Blut- und anderen Kolloidlösungen) durch Aggregation und Desaggregation etc. physikalisch verändern. Hierbei ist der

1) Vgl. u. a. Zeitschr. f. Biochemie, Bd. 23, p. 404.

2) Ebenda, Bd. 24, p. 210.

3) Ebenda.

4) Siehe diese Abhandlung, weiter oben.

elektrochemische Gegensatz von Gift und Kolloid ausschlaggebend. Je größer die mit Hilfe von Oberflächenspannungen gemessene physikalische Zustandsänderung der Kolloidlösungen ist, um so größer ist im allgemeinen auch die Giftwirkung. Die Reihenfolge der Gifte zeigt für verschiedene Milieus zwar größere Schwankungen, doch sind dieselben nur sekundärer Natur. Blutgifte sind daher auch allgemein Kolloidgifte (Farbstoffgifte etc.). Mit zunehmender ultramikroskopischer und mikroskopischer Aggregierung des Giftes oder ultramikroskopischer und mikroskopischer Fällung tritt eine Entgiftung des Giftes und des Milieus ein.

Im zweiten Teile dieser Abhandlung werden die Ergebnisse des ersten Teils auf die Wirkung der Toxine und Antitoxine sowie auf weitere Immunitätsvorgänge übertragen. Es zeigt sich eine überraschende Analogie der Wirkung der gewöhnlichen Gifte und der Toxine.

Sämtliche Vorgänge auf dem Immunitätsgebiete lassen sich in einfachster Weise durch eine physikalische Theorie auch da erklären, wo die chemische Theorie im Stich läßt oder nur durch verwickelte hypothetische Annahmen sich zu helfen weiß.

Auch die Spezifität der Wirkungen findet, wie im dritten Teile der Abhandlung gezeigt wird, eine Erklärung im Sinne der physikalischen Theorie (Resonanztheorie) durch die Annahme, daß die Spezifität auf einer Abstimmung der Oberflächenkräfte beruht. Antigene sind Fermente, welche abgestimmte Molekularkomplexe hervorbringen, und Fermente sind keine Katalysatoren im Sinne Ostwalds, es sind meist stoffliche Aggregate, welche nicht auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung, sondern auf Grund der an ihrer Oberfläche wirkenden Kräfte ihre Wirkungen vollbringen.

Im Gegensatz zu der chemischen Theorie ist die physikalische Theorie imstande, ein weitumfassendes Gebiet von Erscheinungen auf einheitlicher Grundlage miteinander zu verknüpfen.

Nachdruck verboten.

[Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf).]

**Ueber passive Uebertragbarkeit der intrakutanen
Tuberkulinreaktion (Römer) beim Meerschweinchen.**

Von Reg.-Arzt Dr. J. Novotný und Dr. B. Schick.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. November 1909.)

Bis vor kurzem galt der Satz, daß die positive Tuberkulinreaktion an das tuberkulöse Individuum gebunden sei, d. h. daß es unmöglich ist, durch Vorbehandlung eines normalen Tieres mit Serum von Blut eines tuberkulösen, auf Tuberkulin reagierenden Tieres beim gesunden Tier Empfindlichkeit gegen Tuberkulin hervorzurufen. Die von v. Pirquet und Schick zitierten Versuche von Preisich und Heim sind nur mit Vorsicht zu verwerten, denn sie verlaufen nicht gesetzmäßig.

Erst in der letzten Zeit sind neue Versuche über passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinreaktion veröffentlicht worden. So hat Bauer versucht, auf dem Wege der Temperaturreaktion die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit zu demonstrieren; er injizierte gesunden Meerschweinchen das Serum tuberkulöser Tiere und Menschen (2 ccm) und 24 Stunden später 0,125—0,2 Tuberkulin; die so behandelten Tiere zeigten anschließend an die Tuberkulininjektion rasch eintretende und rasch vorübergehende Temperatursteigerungen. Durch Kontrollversuche mit dem Serum gesunder Meerschweinchen und gesunder Menschen bemüht sich Bauer, die Spezifität der Temperaturreaktion zu beweisen. Den Versuchen Bauers kann eingewendet werden, daß das Meerschweinchen zum Studium von Temperaturreaktionen ungeeignet ist, da bei solchen Tieren auf verschiedene Einflüsse hin schon hohe Schwankungen der Temperatur hervorgerufen werden können¹⁾. Auch die Versuche von Yamanouchi, der akuten

1) Siehe Novotný, Zeitschr. f. Immunitätsforsch.

Tod von Kaninchen beschreibt, wenn er sie nach Vorbehandlung mit Serum tuberkulöser Menschen und Tiere mit Tuberkulin nachinjiziert, sind nach den Untersuchungen von Kraus, Eitner und Stoerk, Novak und Roepke nicht einwandsfrei. Erst die Versuche von Helmholtz, der durch Prüfung der Kutanreaktion auf Tuberkulin diese Frage zu lösen suchte, sind zur Entscheidung der Frage verwertbar. Gesunde Tiere zeigen auf Impfung von konzentriertem Alttuberkulin nach der Methode v. Pirquets entweder gar keine Reaktion, oder höchstens eine kleine rote Papel von 2—3 mm Durchmesser. Manche tuberkulöse Tiere zeigen wohl ebenfalls eine negative Kutanreaktion, die meisten aber geben diagnostisch verwertbare Reaktion von einem Durchmesser von 0,5—1,2 cm. Als unterste Grenze der positiven Reaktion gibt Helmholtz 0,5 cm an. Das Serum von stark reagierenden tuberkulösen Tieren, auf gesunde intraperitoneal übertragen, bewirkt bei diesen (6) Tieren fünfmal, daß die früher negativ oder unscheinbar ausgefallene Kutanreaktion sich auf Reaktionsgrößen verstärkte, die denen tuberkulöser Tiere gleichkommen, d. h. gesunde Tiere werden durch Vorbehandlung mit tuberkulösem Blut für kutane Einimpfung von Tuberkulin überempfindlich. Auch auf dem Wege der Parabiose konnte Helmholtz nachweisen, daß ein gesundes Tier 4—5 Tage nach Vereinigung mit einem tuberkulösen Tier ebenso intensive Kutanreaktion auf Tuberkulin bekam wie das tuberkulöse. Die Reaktionsfähigkeit auf Tuberkulin trat bei intraperitonealer Vorbehandlung meist erst nach 48—72 Stunden deutlich auf, beim parabiotischen Tier erst nach 5 Tagen; die letztere Tatsache erklärt sich dadurch, daß es erst nach dieser Zeit zu Gefäßvereinigung beider Tiere gekommen ist.

Bei der prinzipiellen Bedeutung dieser Frage mußten Versuche fortgesetzt werden; dies um so mehr als doch auch das gesunde Tier nach den Versuchen von Helmholtz kleine Reaktionen aufwies und die Differenzen normaler und tuberkulöser Tiere so geringfügig sind, daß sie eine objektive Trennung zwischen positiv und negativ erschweren. Wir haben deshalb seine Versuche neuerlich aufgenommen, vor allem aus dem Grunde, weil durch die sogenannte intrakutane Tuberkulininjektion nach Moussu und Mantoux,

Mendel und Römer eine bessere Methode für die Entscheidung der von Helmholtz geprüften Frage gegeben sein konnte, was schon Römer betont. Die intrakutane Methode der Tuberkulininjektion, die für das Meerschweinchen von Römer im wesentlichen experimentell ausgearbeitet worden ist, besteht in der möglichst oberflächlichen Injektion geringer Tuberkulinmengen in die Haut. Römer hat nachgewiesen, daß Tiere, die auf intrakutane Injektion von 0,02 ccm Alttuberkulin in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung mit lokalen Entzündungserscheinungen reagieren, sicher tuberkulös sind. Die Intensität der Reaktion schwankt je nach dem Grade der Empfindlichkeit der Tiere, am meisten aber ist die Reaktionsform und -größe abhängig von der Schwere der Erkrankung. Bei gesunden Tieren verläuft die intrakutane Injektion von 0,02 ccm Alttuberkulin in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung stets reaktionslos. Diese Methode hat den Vorzug vor der kutanen, daß stets die gleiche und bestimmte Menge von Tuberkulin zur Reaktion gelangt, weiter ist die Intensität der Kutanreaktion sicher auch abhängig von der Ausführung; denn je oberflächlicher die Verletzung mit dem Impfbohrer ausfällt, um so kleiner die Reaktion; besonders bei der dicken tierischen Haut kommt dieses Moment stark in Betracht, während, wie wir wissen, beim Menschen diese Schwierigkeiten belanglos sind.

Unser Versuchsplan war folgender: Nach Ueberprüfung der Angaben Römers sollten tuberkulöse Tiere mit intensiver Intrakutanreaktion entblutet werden; gesunde, vorher durch intrakutane Injektion von 0,02 ccm Tuberkulin geprüfte und negativ reagierende Meerschweinchen erhalten das Blut bzw. Serum der tuberkulösen Tiere intraperitoneal injiziert. 24^a später sowie an den folgenden Tagen werden bei den so vorbehandelten Tieren die intrakutanen Injektionen von 0,02 ccm Tuberkulin wiederholt.

10 gesunde Meerschweinchen, die auf 0,02 Alttuberkulin intrakutan nicht reagierten, wurden am 23. VII. mit 1 ccm tuberkulöser Organemulsion (Milz, Leber) intraperitoneal infiziert. Am 15. VIII., am 22. Tage nach der Infektion, neuerlich mit 0,02 Alttuberkulin geprüft, zeigten die Tiere nach 24^a violettgefärbte Infiltrate von 18—23 mm Durchmesser. Diese Reaktion heilte unter Krustenbildung ab. 5 dieser Tiere wurden am 2. IX. — am 32. Tage nach der Infektion — neuerlich mit Tuberkulin (0,02 ccm) intrakutan geprüft; 2 dieser Tiere gingen nach 24^a ein. Die Sektion ergab ausgebreitete Tuberkulose, hauptsächlich des Peritoneums, des Netzes und der Leber.

Die 3 am Leben gebliebenen Tiere, die ähnliche Reaktion zeigten, wie das erste Mal, wurden entblutet. Die Sektion bestätigte die ausgedehnte tuberkulöse Erkrankung des Tieres. Das Serum dieser Tiere wurde 4 gesunden, auf Tuberkulin 0,02 intrakutan nicht reagierenden Tieren intraperitoneal injiziert. 24^h später neuerliche Prüfung zweier Tiere mit 0,02 Alttuberkulin. Nach 24^h zeigten diese Tiere an der Injektionsstelle 5—7 mm breite knotenförmige rote Erhebungen. Die 2 restlichen Tiere wurden nach 48^h mit 0,02 Tuberkulin geprüft. Die Injektionsstelle zeigte nach 24^h ein 3 mm durchmessendes rotes Knötchen.

Man hätte schon aus diesem Befunde auf die Möglichkeit der passiven Uebertragbarkeit der Tuberkulinreaktion schließen können, doch waren uns die Reaktionen zu geringfügig, um uns zu so weitgehenden Schlüssen zu veranlassen; überdies waren wir von der Vorschrift R ö m e r s abgegangen und hatten bei den nach der intraperitonealen Infektion vorgenommenen Tuberkulinprüfungen 0,02 Alttuberkulin in 0,05 Flüssigkeit injiziert. Wir überzeugten uns dann, daß dieses Abgehen von der Methode R ö m e r s ungünstig war, denn auch gesunde Tiere zeigten bei dieser Art der Injektion kleine knötchenförmige Infiltrate an der Injektionsstelle. In Kenntnis dieser Tatsache mußten uns die ersten positiven Impfresultate bei passiver Uebertragung noch weniger verwertbar erscheinen. Wir injizierten die erwähnten Tiere am 14. IX., das ist am 12. Tage nach der Vorbehandlung mit Serum tuberkulöser Tiere, mit 0,02 in 0,1 Flüssigkeit und erhielten nunmehr auch bei dieser Injektionsart knötchenförmige Infiltrate von 5—6 mm Durchmesser, und analoge Resultate bei neuerlicher Prüfung am 14. Tage nach der Vorbehandlung.

Wir wollten aber diese positiven Resultate nicht verwerten, da der Einwand berechtigt war, daß 12 bzw. 14 Tage nach der Injektion des Serums tuberkulöser Tiere durch Erkrankung dieser Tiere an Tuberkulose Reaktionsfähigkeit auf Tuberkulin aufgetreten sein konnte, d. h. daß diese Tiere aktiv und nicht passiv tuberkulinempfindlich geworden sind. Wir mußten daher den Versuch wiederholen.

Wir prüften bei 9 normalen Tieren ihr Verhalten bei Injektion von 0,02 Alttuberkulin in 0,1. Die Injektionen verliefen alle reaktionslos. Am 16. IX. wurden diese Tiere mit 5—8 ccm Blut von auf 0,02 Alttuberkulin intrakutan stark reagierenden, tuberkulösen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, und zwar erhielt jedes Tier das defibrinierte Blut nur

eines Tieres, um die Mischung des Blutes mehrerer tuberkulöser Tiere zu vermeiden.

Die Infektion der tuberkulösen Tiere war am 24. VII. erfolgt. Die Tuberkulininjektionsstellen zeigten 18—23 mm durchmessende, etwas gelbliche, zum Teil hämorrhagische Infiltrate, und bei der Obduktion ergaben sich mehr oder weniger ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen in den meisten Organen.

24 Stunden nach dieser intraperitonealen Vorbehandlung erhielten die Tiere neuerlich 0,02 Tuberkulin in 0,1 Flüssigkeit intrakutan. 8 Tiere zeigten darauf keine Reaktion. Nur bei einem Tiere bildete sich an der Injektionsstelle innerhalb 24 Stunden ein 5 mm breites, leicht erhabenes Knötchen. 48 Stunden nach der Vorbehandlung werden alle Tiere neuerlich in gleicher Weise mit Alttuberkulin geprüft. Nunmehr reagierten sämtliche Tiere innerhalb 24 Stunden mit deutlichem, intensiv rotem, 5—16 mm durchmessendem Infiltrat. 3 × 24 Stunden nach der Vorbehandlung zeigten alle Tiere auf intrakutane Injektion von 0,02 Alttuberkulin ziemlich gleichmäßig intensive Infiltrate von 6—10 mm Durchmesser. Nach 4 × 24 Stunden neuerlich injiziert, erhielten wir dieselben Resultate. Nur ein Tier zeigte eine besonders starke Reaktion in Form eines 20 × 15 mm durchmessenden intensiv roten Infiltrates.

Die Reaktionen erreichten nach 24 Stunden das Maximum ihrer Intensität und wurden schon nach weiteren 24 Stunden undeutlicher. Die Rückbildung war nach 3—5 Tagen vollendet.

Analog verliefen Versuche bei intraperitonealer Vorbehandlung gesunder Meerschweinchen mit je 2 ccm Serum tuberkulöser, auf Tuberkulin (intrakutan) stark reagierender Tiere.

24^a nach der Vorbehandlung ergab die Prüfung kein sicher verwertbares Resultat. 48^a nach der Vorbehandlung neuerlich geprüft, zeigte nur 1 Tier ein dunkelrotes Infiltrat an der Injektionsstelle von 15—17 mm Durchmesser, dagegen die 2 anderen Tiere keine wesentliche Reaktion. Auch nach 4 × 24^a reagierte 1 Tier noch ganz undeutlich, dagegen die 2 anderen mit dunkelroten Infiltraten von 12—14 mm Durchmesser. 5 × 24^a nach der Vorbehandlung zeigte auch das bisher nicht reagierende Tier ein Infiltrat von 6—8 mm Durchmesser, die 2 anderen Tiere gleich intensive Reaktion wie bei den vorherigen Prüfungen. Von da ab nehmen die Reaktionen sichtlich an Größe ab. Am 9. Tage nach der Vorbehandlung neuerlich geprüft, zeigte nunmehr 1 Tier eine

Reaktion von 10 mm Durchmesser, während alle anderen Tiere diese Injektion fast ohne Reaktion vertrugen. Ähnlich verlief ein am 20. IX. vorgenommener Versuch an 2 gesunden, mit 6 resp. 8 ccm Blut tuberkulöser Meerschweinchen vorbehandelten Tieren.

Das Ergebnis dieser Versuche würde dafür sprechen, daß eine passive Uebertragbarkeit der Reaktionsfähigkeit auf Tuberkulin möglich ist.

Kraus und Volk wollten, während unsere Versuche im Gange waren, diese Frage in dem Sinne erweitern, ob eine passive Uebertragbarkeit der Reaktionsfähigkeit auf Tuberkulin vom Menschen auf Meerschweinchen durchführbar ist. Sie erhielten dabei negative Resultate. Sowohl die mit dem Serum tuberkulöser Menschen intraperitoneal vorbehandelten Meerschweinchen, wie die Kontrolltiere zeigten bei der 2. und 3. Injektion 5—7 mm große, hellrote, knötchenförmige, rasch ablassende Infiltrate. Dieses Verhalten der Kontrolltiere veranlaßte uns, noch weitere Uebertragungsversuche durchzuführen.

Von 6 gesunden Meerschweinchen, mit Tuberkulin 0,02 intrakutan geprüft, zeigten 5 keine Reaktion; 1 Tier wies 10 mm durchmessende Rötung auf. 3 negativ reagierende Meerschweinchen erhalten 8, 8, 10 ccm defibriniertes Blut von tuberkulösen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Nach 24, 2×24 und 6×24^h intrakutane Injektion von 0,02 Tuberkulin (siehe die Tabelle p. 281).

Es ergibt sich, daß auch normale Tiere bei rasch nacheinander folgenden intrakutanen Tuberkulininjektionen kleine, meist nur knötchenförmige Infiltrate zeigen können, welche nach 48^h schon undeutlich werden. Es wird dadurch die Beurteilung der Reaktion bei mit Blut tuberkulöser Tiere vorbehandelten Meerschweinchen erschwert; kleine Infiltratbildung und Rötung darf noch nicht als positive Reaktion bezeichnet werden. Es liegen hier ähnliche Schwierigkeiten vor, wie bei den Versuchen von Helmholtz, der bei kutaner Impfung von Tuberkulin auch bei normalen Tieren kleine entzündliche Reaktionen erhielt. Der Versuch wurde an 6 Tieren wiederholt, wobei 3 Tiere als Kontrolle dienten. Das Ergebnis war ein analoges.

Die Frage der passiven Uebertragbarkeit der Reaktionsfähigkeit auf Tuberkulin muß daher im negativem Sinne entschieden werden, wiewohl die Intensität der Reaktion nach intraperitonealer Vorbehandlung mit dem Blut oder Serum tuberkulöser Tiere in manchen Fällen zunahm, so daß man daran denken konnte, diese Veränderung mit der Vorbehandlung in

Meer- schw. No.	Intrakut. Vorprobe mit 0,02 A.T.K.	Reaktion nach 24 Std.	21. X.	22. X.	23. X.	24. X.	25. X.	26. X.	27. X.	28. X.	29. X.
293	19. X.	?	θ	θ	θ	θ
.	.	20. X. 10 ccm Tbc.-Blut	0,02 A.T.K.	fast 0, Rötung	blässer, fast θ	θ
.	.	.	.	0,02 A.T.K.	7 mm	blässer	fast θ
.	0,02 A.T.K.	14 mm	8— 10 mm blässer	noch blässer
294	0,02	?	θ
.	.	8 ccm Tbc.-Blut	0,02	geringe, lokale Rö- tung	θ
.	.	.	.	0,02	7 mm	blässer	θ	θ	10 mm	blässer	θ
292	0,02	?	0,02
.	.	10 ccm Tbc.-Blut	0,02	8 mm	blässer	θ
.	.	.	.	0,02	6 mm	fast θ
.	0,02	10 mm	kleine Knöt- chen	θ
Kon- troll.											
291	0,02	10 mm große, pa- pelförmig. Reaktion m. Oedem	etwas blässer	Knötchen	fast θ
.	.	.	0,02	Knötchen 4—5 mm	blässer	θ
.	.	.	.	0,02	11 mm infil- triert	blässer	gering. Knöt- chen	θ	θ	θ	.
.	0,02	8 mm	6 mm	fast θ
295	0,02	5 mm, knötchen- förmige Reaktion	blässer	θ	θ
.	.	.	0,02	fast 0	θ	θ	θ
.	.	.	.	0,02	6 mm hellrot	blässer	θ	θ	.	.	.
.	0,02	12 mm	fast θ	θ
296	0,02	?	θ	θ
.	.	.	0,02	leichte Rötung 4 mm	θ	θ
.	.	.	.	0,02	6 mm	blässer	θ	θ	θ	.	.
.	0,02	7 mm	blässer	fast θ

kausalen Zusammenhang zu bringen. Die Intensität selbst dieser Reaktionen bleibt aber weit hinter der Größe der Reaktionen zurück, welche man an dem tuberkulösen Tier beobachtet, dessen Blut zur Vorbehandlung verwendet wurde. Das Vorkommen ähnlicher Reaktionen bei Kontrolltieren spricht gegen die Verwertbarkeit solcher Reaktionen für die Beantwortung der Fragestellung im bejahenden Sinne.

Die Frage der passiven Uebertragbarkeit der Tuberkulinreaktion ist deswegen von Bedeutung, weil es unklar ist, ob zum Zustandekommen der Tuberkulinreaktion Stoffe notwendig sind, welche sich in den Zellen des tuberkulösen Organismus vorfinden oder ob sich an der Reaktion auch Substanzen beteiligen, die im Blute oder Serum enthalten sind. Unsere Versuche sind für die erste Annahme zu verwerfen.

Das Resultat vorliegender Untersuchungen stimmt mit den unterdes veröffentlichten Ergebnissen anderer Autoren (z. B. Joseph) überein.

Literatur.

- Mendel, Felix, Ueber intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnostischen Zwecken. Brauers Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 13, 1909, Heft 1, p. 139.
 Moussu und Mantoux, Acad. de Sciences, 10. VIII. 1908.
 Römer und Joseph, Prognose und Inkubationsstadium bei experimenteller Meerschweinchentuberkulose. Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 28, p. 1300.
 Bauer, Münch. med. Wochenschr., 1909.
 Helmholtz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, p. 371.
 Yamanouchi, Wien. klin. Wochenschr., 1909.
 Roepke, Brauers Beiträge, 1909.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der medizinischen
Akademie Osaka; Direktor: Prof. A. Sata.]

**Ist die Meiostagminreaktion zum anaphylaktischen
Studium anwendbar?**

Von **Y. Fukuhara,**

Professor und Abteilungsleiter des Instituts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Februar 1911.)

Die serologischen Untersuchungen der letzten Jahre haben die Notwendigkeit ergeben, den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Blutes erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken. Wichtig ist es, gewisse im Serum vorkommende Substanzen hinsichtlich ihres Verhaltens im pathologischen und immunisierten Blute gegenüber dem normalen kennen zu lernen. In dieser Richtung haben wir schon einige interessante Publikationen, z. B. die optische Methode Abderhaldens, die Epiphaninreaktion Weichardts usw.

In letzter Zeit wurden von M. Ascoli und seinen Mitarbeitern Oberflächenreaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern beschrieben. Ihre Veröffentlichungen veranlaßten uns, das Verhalten der Meiostagmine zur Anaphylaxie zu studieren.

Wir stellten uns die Aufgabe, zu untersuchen:

- 1) ob ein Zusammenhang zwischen Präzipitin- und Stagminreaktion besteht;
- 2) ob im Blute sensibilisierter Tiere spezifische Meiostagmine enthalten sind;
- 3) welche Beziehungen zwischen dem Auftreten des anaphylaktischen Antikörpers und dem des Meiostagmins bestehen.

I. Versuch mit Präzipitinserum.

Serumantigenbereitung: Das bei ca. 50° getrocknete Serum wird pulverisiert und das Pulver wird mit Alkohol (im Verhältnis von 5 g zu 25 ccm Alkohol) 24 Stunden bei 50° extrahiert. Das heiß filtrierte Filtrat läßt man abkühlen und

filtriert nochmals durch Papierfilter. Einstellung des Antigens wie von Ascoli und Izar früher angegeben. Die Bestimmungen sind alle mit dem Traubescen Stalagmometer, das für Wasser 56 Tropfen bei 15° ergab, ausgeführt worden (Zimmertemperatur 13°). Jede Serie wurde natürlich mit ein und demselben Instrument bestimmt. Bezüglich der Technik verweise ich auf die von Ascoli zitierten Mitteilungen; die Resultate sind in der folgenden Tabelle I zusammengestellt. Ein Kaninchen wurde mit Pferdeserum immunisiert. Das Präzipitinserum reagiert noch bei 1:1000.

Tabelle I.

Verdünnung von Präzipitinserum	Tropfenzahl	
	sofort	2 Stdn. bei 37° nach Zusatz von Pferdeserumlipoid
1:20	55 + 5	57 + 5
1:50	56	56 + 3
1:100	56 — 1	56
1:500	55 + 3	57 — 1
1:1000	56 + 2	56 + 4
Normalkaninchen- serum		
1:20	55 + 5	57 + 1

Einen Versuch mit Anti-Schafkaninchen- serum habe ich auch gemacht und bin zu keinem positiven Ergebnis gelangt. Der Kürze halber führe ich die Untersuchungsergebnisse hier nicht an.

II. Versuche mit Seris sensibilisierter Meerschweinchen.

Den mit 0,1 ccm Pferdeserum subkutan sensibilisierten Meerschweinchen wurde nach 1, 2 und 3 Wochen Probeserum entnommen und das Serum wurde auf Meistagminreaktion geprüft.

Tabelle II.

Mit Aq. dest. auf ¹ / ₂₀ verdünntes Serum von	Serum entnommen nach	Tropfenzahl	
		sofort	2 Stdn. bei 37° nach Antigenzusatz
Meerschw. 1	1 Woche	55 + 1	56 + 2
" 2	1 "	56 — 2	56
" 3	2 Wochen	55 + 4	56 + 1
" 4	2 "	56	57 — 1
" 5	3 "	56	56 + 2
" 6	3 "	56 — 1	57 — 3
" 7	4 "	56 — 2	56 + 4
" 8	4 "	56	57 — 1
normalem Meerschw.		56 — 4	56 + 3

Ein Teil dieser sensibilisierten Meerschweinchen wurde 2, 3 und 4 Wochen nach der Erstinjektion auf die anaphylaktische Reaktion geprüft; es ließen sich positive Erscheinungen nachweisen.

III. Versuche mit Meerschweinchenseris während des anaphylaktischen Krankheitsverlaufes.

Meerschweinchen wurden mit 0,1 Pferdeserum subkutan sensibilisiert und 3 Wochen nach der Erstinjektion mittelst intravenöser Injektion von 0,5 ccm des Pferdeserums auf Ueberempfindlichkeit geprüft.

Es wurde das Tierblut vor der Reinjektion und während der anaphylaktischen Krämpfe entnommen und auf Meiostragmin ohne Antigenzusatz untersucht.

Aus Tabelle III geht hervor, daß die Meiostragminreaktion bei den anaphylaktischen Tieren negativ ausfällt.

Tabelle III.

Sensibil. Meerschw. No.	Vor der Reinjektion		Während der anaphylakt. Krämpfe	
	sofort	nach 2 Std. bei 37°	sofort	nach 2 Std. bei 37°
10	55 + 3	57	55 + 1	57 - 1
11	56	56 + 1	56 - 1	56 + 1
12	55 - 1	56 + 5	56	56 + 3
13	56	57 - 1	56 - 2	57 - 2
Normal-Meerschw.	55 + 4	56 + 3	56 - 2	57

Mit dem Serum nicht nur sensibilisierter, sondern auch anaphylaktisch reagierender Meerschweinchen ließ sich keine nennenswerte Veränderung des Haftdruckes nachweisen gegenüber dem normalen.

Einen Versuch habe ich ferner ausgeführt bezüglich der Frage, wie sich das Agglutininserum zu der Stagminreaktion verhält. Diese Untersuchungen wurden mit verschiedenen Immunseris ausgeführt, nämlich mit Cholera-, Typhus-, Tuberkulose-, Dysenterie- und Streptokokkenserum vom Pferde.

Antigendarstellung: Die mit destilliertem Wasser hergestellten Bakterienaufschwemmungen wurden 2 Tage lang bei 37° unter Toluolzusatz digeriert und dann getrocknet. Die

getrocknete Masse wurde mit Aethylalkohol 20 Stunden bei 50° extrahiert und der Extrakt wurde durch Filterpapier klar filtriert.

Bei diesen Untersuchungen bin ich bis jetzt zu keinem positiven Ergebnis gelangt. Ich führe deshalb die Befunde hier nicht an. Ascoli und Izar¹⁾ fanden auch im Serum von mit abgetöteten Typhuskulturen und Typhusantigen behandelten Kaninchen keine Typhusmeiostagmine.

Als einzigen Nachprüfer, der den Wert der Stagminreaktion bezweifelt, finden wir Bertolini²⁾. Der Autor glaubt, daß das Zusammenbringen von Toxin mit Antitoxin die Bildung von Stoffen mit geringerem Haftdrucke nicht verursacht, weil es keinen Einfluß auf die Oberflächenspannung der aus den Mischungen Toxin und Antitoxinserum entstandenen Flüssigkeiten hat. Bei seiner Untersuchung verwendete er natürlich die Toxine als solche und nicht als Lipoide. Ascoli deutete schon in seiner Beschreibung an, daß es möglich wäre, daß Eiweißantigene dieselbe Rolle bei Oberflächenspannungs-erniedrigung spielen können wie Lipoidantigene. Davon angeregt, nahm ich mir vor, die obenerwähnten Versuche mit Eiweißantigenen (Serum als solches und wässrige Bakterienextrakte) an Stelle der Lipoidantigene zu wiederholen. Sämtliche Versuche waren negativ.

Zusammenfassung.

- 1) Zwischen der Präzipitin- und Stagminreaktion besteht kein Zusammenhang.
- 2) Zum Studium der Anaphylaxie ist die Meiostagminreaktion nicht anwendbar.

1) Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 18.

2) Bioch. Zeitschr., Bd. 28, p. 61.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Serotherapeutischen Institut der klinischen Hochschule zu Mailand; Vorstand: Prof. S. Belfanti.]

Ueber die Komplementbindung als Prüfungsmethode der Meningokokken- und Gonokokkensera und die Spezifität ihrer Ambozeptoren.

Von Dr. Gian Luigi Colombo.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Februar 1911.)

Nachdem durch die Einspritzung von Gonokokken und Meningokokken bei großen Tieren (Pferden, Maultieren, Schafen) zwei Serumarten mit deutlichem und anerkanntem Immunisierungsvermögen erlangt worden waren, wurden zahlreiche Untersuchungen angestellt, um in den Seris selbst gegen jeden dieser Keime spezifische Agglutinine, Präzipitine und Ambozeptoren nachzuweisen.

Diese Studien haben nicht bloß einen einfach theoretischen Wert, sondern sind auch von großer praktischer Wichtigkeit, da sie eine Prüfungsmethode der therapeutischen Eigenschaften dieser Immunsera abgeben dürften.

Die ersten Untersuchungen über die Agglutinine und Präzipitine bewiesen, daß den großen morphologischen und kulturellen Aehnlichkeiten zwischen Gonokokken und Meningokokken ebensolche biologische Analogien in ihren Antiseris entsprechen, so daß, während Dopter und Koch¹⁾ von Agglutininen der Gruppe und von spezifischen Agglutininen, von Kopräzipitinen und spezifischen Präzipitinen sprechen, andere Forscher [Brückner und Christéanu²⁾, Eberle³⁾, Dopter⁴⁾ und Vannod⁵⁾], vorher und nachher, in der Annahme einig gehen, daß es nicht möglich sei, die Differenzierung der Gonokokken, der Pseudo-Meningokokken und Meningokokken mittelst ihrer Antisera vorzunehmen, d. h. man könne keine spezifische Agglutinine und Präzipitine anerkennen.

Nachdem so für die Wertbestimmung dieser Sera die Agglutinin- und Präzipitinmethoden aufgegeben worden waren, wurde von verschiedenen

- 1) Compt. rend. de la Société de Biologie, 1908, p. 215 und 285.
- 2) Compt. rend. de la Société de Biologie, 1906, Mai und Juni.
- 3) Arch. f. Hyg., Bd. 64, Heft 2.
- 4) Compt. rend. de la Société de Biologie, 1909, No. 23.
- 5) Deutsche med. Wochenschr., 1906, p. 1985.

namhaften Forschern die Komplementbindung vorgeschlagen und dann als geeignet eingeführt, während andere für die Methoden der Neutralisierung der Toxine und die der Bakteriotropine eintreten.

Vannod, Krumbein und Schatilloff¹⁾ und Watabiki²⁾ fanden mittelst der Komplementbindung in den Gonokokken- und Meningokokken-seris spezifische Ambozeptoren, aber die Methode erwies sich nicht als zweckentsprechend [Baecher und Hachla³⁾], besonders der Verschiedenheit der Ergebnisse wegen, die man erhält, wenn man als Antigen verschiedene Stämme von Mikroorganismen benutzt.

Dem bewährten Rate des verehrten Herrn Professors S. Belfanti folgend, der mir gütigst in dem unter seiner Leitung stehenden Institute das Studienmaterial zur Verfügung stellte, versuchte ich, ob es auch mir möglich wäre, in den beiden Antiseris spezifische Ambozeptoren aufzufinden, um dann in der Folge ihr Verhalten zu studieren.

Als Antigen gebrauchte ich wässrige Extrakte von Kulturen der Gonokokken- und Meningokokkenstämme auf Ascites-Agar, die ich in der Weise herstellte, daß ich je eine etwa 36-stündige Kultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmte und den Extrakt eine halbe Stunde lang auf 60° erhitzte; hierauf zentrifugierte ich die Auszüge oder versetzte dieselben mit 0,5-proz. physiologischer Karbolsäurelösung (0,85 Proz.).

Die zu den Versuchen herangezogenen Sera stammten teils aus dem Serotherapeutischen Institute in Mailand, teils aus den Laboratorien der Firma Borroughs Wellcome & Co. und teils aus dem Berner Seruminstitut.

In allen Versuchen gebrauchte ich: Inaktiviertes hämolytisches Antihammelserum vom Kaninchen, frisches Serum vom normalen Meerschweinchen, in einer Dosis von 0,05, als Komplement, frische gewaschene und zweimal zentrifugierte Hammelblutkörperchen in 5-proz. physiologischer Kochsalzlösung, physiologische Kochsalzlösung (0,85 Proz.), sterilisierte Reagenzröhrchen und Pipetten.

Die Sera wurden immer eine halbe Stunde lang bei 56° inaktiviert.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1905, Juni.

2) Journ. of Inf. Diseases, 1910, No. 1, p. 159.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910, Heft 5, p. 404.

Tabelle I.

Untersuchung auf Gonokokken-Ambozeptoren.

Gonokokkenantigen: a in der Dosis von 0,01; b in der Dosis von 0,05.

Menge des Serums	Gonokokken- serum Mailand		Meningo- kokkenserum Mailand		Gonokokken- serum Burroughs Wellcome	Meningo- kokkenserum Burroughs Wellcome	Meningo- kokkenserum Bern	Normal- serum (Pferd u. Maul)
	Antig. a	Antig. b	Antig. a	Antig. b	Antigen b	Antigen b	Antigen b	Antigen a
0,5	+ ¹⁾	+	+	+	+	+	± ±	—
0,1	+	+	+	+	+	± ±	±	—
0,05	+	+	+	+	± ±	±	—	—
0,01	± ±	+	± ±	± ±	±	±	—	—
0,005	±	±	±	±	±	—	—	—
0,001	—	—	±	—	—	—	—	—

Tabelle II.

Untersuchung auf Meningokokken-Ambozeptoren.

Meningokokkenantigen A in der Dosis 0,08

K I „ „ „ 0,02

K II „ „ „ 0,07

T „ „ „ 0,07

Menge des Serums	Gonokokken- serum Mailand	Meningo- kokkenserum Mailand	Gonokokken- serum Burroughs Wellcome		Meningo- kokkenserum Burroughs Wellcome			Meningo- kokkenserum Bern	Normal- serum
	A	A	K I	K II	K I	K II	T	K I	K I
0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	±
0,1	+	+	+	+	+	+	±	+	—
0,05	+	+	+	+	+	+	—	+	—
0,01	+	+	±	+	+	+	—	+	—
0,005	± ±	± ±	—	± ±	± ±	+	—	±	—
0,001	±	±	—	±	—	±	—	—	—

Aus der Lektüre der Tabellen erhellt, wie verschieden die Ergebnisse sind, je nach der Verschiedenheit des zur Herstellung des Antigens verwendeten Gonokokken- oder Meningokokkenstammes, was übrigens auch von anderen

1) + Vollständige Ablenkung, ± ± unvollständige Ablenkung, ± unvollständige Hämolyse, — vollständige Hämolyse. Zur Kontrolle dieser und der folgenden Versuche wurden jedesmal auch Proben ohne Antigene angestellt.

Forschern schon früher beobachtet wurde; ich will aber besonders zwei Punkte hervorheben, die mir von nicht geringem Interesse scheinen. Der erste Punkt betrifft die Herstellungsart des Antigens, die ganz bedeutend den Wert dieses letzteren beeinflussen kann: Man beachte z. B., welche Unterschiede die Antigene K I und K II aufweisen, die beide von demselben Meningokokkenstamme herrühren; die Kulturen waren auf demselben Nährboden gezüchtet und unter gleichen Verhältnissen mit denselben Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt worden: von der Lösung war jedoch für das Antigen K II Karbolsäure ($\frac{1}{2}$ Proz.) zugesetzt worden, während dagegen das Antigen K I eine halbe Stunde lang bei 60° gehalten wurde; dies letztere Verhalten wandte ich häufig an und es ergab stets befriedigende Resultate.

Der zweite Punkt betrifft die Titrierung der Antigene.

Bei der Titrierung des Antigens wurde als für die Versuche zu gebrauchende Dosis jene gewählt, welche bei Zusatz zum hämolytischen System eine rasche und vollständige Hämolyse gestattete. Diese Probe gibt uns jedoch keineswegs den Wert des Antigens an; in der Tat hatte sich das Antigen K I recht aktiv gezeigt, es wurde in einer Dosis von 0,02 gebraucht, gab so eine vollständige Bindung des Komplements mit Meningokokkenserum Burroughs & Wellcome bis zur Minimalmenge von 0,01. Das Antigen K II hingegen, welches man für weniger aktiv hätte halten sollen, fixierte, in der Dosis von 0,07 gebraucht, das Komplement mit Meningokokkenserum Burroughs & Wellcome bis zum Grenzwerte von 0,005. Das Antigen T dagegen, in derselben Dosis von 0,07, erwies sich bei den Proben ganz und gar inaktiv.

In Anbetracht der großen Ungewißheit bezüglich des Wertes der Antigene habe ich mich dazu entschlossen, die Antigene mittelst der Sera, d. h. Koeffizienten von unbekanntem Werte zu titrieren, während der Zweck der ist, die Sera mittelst der Antigene auszuwerten; es ist dies der beste Beweis für die Unzulänglichkeit der Methode. Aber es ist ja nicht einmal statthaft, eine Konstanz der Spezifität der Gonokokken- und Meningokokkenambozeptoren in Antiseris zu behaupten; in der Tabelle Ia gab tatsächlich das Meningokokkenserum Mailand Komplementbindung auch mit

dem Gonokokkenantigen; während in der Tabelle IIa die Antigonokokkenserum Mailand und Borroughs & Wellcome mit Meningokokkenantigen reagierte.

Angesichts solcher Ergebnisse meiner öfter wiederholten Versuche legte ich großen Wert darauf, stets echte Meningokokken zur Verfügung zu haben, von denen manche aus hervorragenden Laboratorien stammten (Bern, Wien); wie auch die Gonokokken jedesmal aus der Harnröhre von an typischem Tripper erkrankten Patienten gezüchtet und in entsprechender Weise kontrolliert wurden. Ich ließ es mir jedoch angelegen sein, eine Ursache aufzufinden, welche die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der anderen Autoren und den meinigen, zum Teil abweichenden, aufzuklären vermöchte.

Der Haupteinwand, der bei einer genauen Prüfung der Versuche erhoben werden konnte, war folgender: Die von dem Mailänder serotherapeutischen Institute hergestellten Gonokokken- und Meningokokkenserum waren durch Vorbehandlung der Tiere (Maultiere) mit auf Ascites-Agar Nährböden gezüchteten Keimen (die jedesmal kontrolliert wurden) erhalten; nun konnte man vermuten, daß in den Seris sich nicht allein die Ambozeptoren für die jeweiligen Keime, sondern auch Ascitesantikörper befänden, da ja eine wenn auch nur geringe Quantität Ascites jedesmal in der einzuspritzenden Emulsion enthalten war. Da ich nun als Antigen auf Ascites-Agar gezüchtete Keime gebrauchte, so konnte es geschehen, daß die sehr kleine Menge des in den Antigenen enthaltenen Ascites mit seinen in den Seris enthaltenen Antikörpern reagierte und so das Komplement band ganz unabhängig von den sonstigen Antigenen und Antikörpern des Reaktionsgemisches.

Aber obwohl andere Beweise, von denen einige weiter unten auch aufgeführt sind, mich die Richtigkeit dieser Vermutungen bezweifeln ließ, so stellte ich doch, um jeden Zweifel zu beseitigen, zwei Versuchsreihen an, die die Grundlosigkeit dieser Ansicht dartun, wie die Tabellen III und IV es zeigen.

Bei der Versuchsreihe der Tabelle III prüfte ich die Sera, indem ich als Antigen Ascites allein verwendete, das aus oben angeführten Gründen dem Serum gegenüber als Antigen hätte wirken und Komplementablenkung herbeiführen müssen; bei Tabelle IV benutzte ich ein Meningokokkenantigen, das mit

auf Schweineblutagar gezüchteten Keimen erhalten war und nur mit Meningokokkenserum die Fixierung des Komplements hätte herbeiführen müssen.

Tabelle III.

Antigen. Ascites vom Menschen 0,2.

Menge des Serums	Meningo- kokkenserum Mailand	Gonokokken- serum Mailand
0,5	±	+
0,1	—	—
0,05	—	—
0,01	—	—
0,005	—	—
0,001	—	—

Tabelle IV.

Menge des Serums	Meningo- kokkenserum Mailand	Gonokokken- serum Mailand
0,5	+	+
0,1	+	+
0,05	± ±	+
0,01	±	±
0,005	—	—
0,001	—	—

Ich darf also behaupten, daß sich nicht immer im Gonokokken- und im Meningokokkenserum spezifische Ambozeptoren finden, sondern man kann Ambozeptoren nachweisen, die in gleicher Weise sowohl mit dem Gonokokkenantigen als mit dem Meningokokkenantigen reagieren, Alexine binden und die Hämolyse verhindern. — In den Seris aus Mailand z. B. sind nichtspezifische Ambozeptoren¹⁾ enthalten.

Die Ambozeptoren der beiden Sera wären Ambozeptoren der Gruppe in Uebereinstimmung mit dem, was für die Agglutinine und die Präzipitine festgestellt wurde und man könnte sie also Koambozeptoren nennen.

Die Anwesenheit der Koambozeptoren in den beiden Seris schließt jedoch nicht aus, daß auch für den Keim, mit welchem das Tier immunisiert wurde, spezifische Ambozeptoren darin enthalten sind; die vorhergehenden Untersuchungen gestatteten das Erkennen derselben nicht, nur die folgenden können es mir dartun.

In einer ersten Reihe von Versuchen bestimmte ich die größte Menge Komplement, die durch eines der Antigene mit

1) Die Sera wurden auch mit Streptokokkenantigen geprüft mit negativem Erfolg; Antigonokokkenserum: 0,5 Hämolyse, Antimeningokokkenserum: 0,5 Hämolyse fast komplett.

dem Antiserum des andern Keimes gebunden werden konnte. Ich nahm beide in einer derartigen Dosis, daß sich weder ein Ueberschuß von Antigen noch ein Ueberschuß von Ambozeptoren fände, was ich aus den früheren Versuchen folgern konnte. In dem so behandelten Serum versuchte ich den Nachweis der Ambozeptoren des zur Immunisierung herangezogenen Keimes zu erbringen.

I. Prüfung auf die spezifischen Meningokokkenambozeptoren in dem Meningokokkenserum.

a) Bestimmung der größten Menge von durch feste Quantitäten Gonokokkenantigen und Meningokokkenserum fixierbarem Komplemente.

Probe	Komplement ccm	Meningokokken- serum Mailand	Gonokokkenserum Mailand	Resultate
1	0,05	0,04	0,01	+
2	0,07	0,04	0,01	+
3	0,09	0,04	0,01	+
4	0,11	0,04	0,01	+
5	0,13	0,04	0,01	± ±
6	0,15	0,04	0,01	±
7	0,17	0,04	0,01	—
8	0,19	0,04	0,01	—
9	0,21	0,04	0,01	—

Dieser Versuch lehrt, daß das Gonokokkenantigen in der Dosis von 0,01, wenn es mit den Ambozeptoren des Antimeningokokkenserums in der Dosis von 0,04 ccm vereinigt wird, ungefähr 0,15 Komplement bindet. Gesetzt den Fall, es beständen in dem Meningokokkenserum außer den Ambozeptoren der beiden Keime (Ambozeptoren der Gruppe) auch spezifische Meningokokkenambozeptoren, dann hätte sich in der 6. Probe des Versuches a das Gonokokkenantigen mit den Ambozeptoren der Gruppe, die in dem Meningokokkenserum enthalten waren, verbunden, die spezifischen Meningokokkenambozeptoren aber — gesetzt sie beständen — wären aber ohne Zweifel noch frei darin.

Wenn ich nun in einem darauffolgenden Versuche vor dem Zusatz des hämolytischen Antihammelserums und der roten Blutkörperchen zu Probe No. 6 Meningokokkenantigen und

Komplement (0,05 ccm) hinzufüge (das erste Komplement ist schon ganz fixiert), so wird sich das Meningokokkenantigen mit den freigebliebenen spezifischen Ambozeptoren verbinden, das Komplement fixieren und die Hämolyse der Blutkörperchen, welche nachher zusammen mit dem hämolytischen Serum zugesetzt werden, verhindern.

Ist das Endergebnis hingegen „vollständige Hämolyse“, so berechtigt es zur Annahme, daß das Gonokokkenantigen sich mit allen im Serum enthaltenen Ambozeptoren verbunden hat, denn da das Meningokokkenantigen im Serum keine freien Ambozeptoren gefunden hat, so ist die zweite hinzugefügte Dosis Komplement imstande, die Hämolyse auszulösen.

b) Prüfung auf spezifische Meningokokkenambozeptoren im Serum des Versuches a.

	Probe	Kontrolle I	Kontrolle II
Gonokokkenantigen	0,01	0,01	0,01
Meningokokkenserum	0,04	0,04	0,04
Komplement	0,15	0,15	0,15
	30' à 37°	30' à 37°	30' à 37°
	Meningo		Gonok.
Antigen	0,1	0	0,01
Komplement	0,05	0,05	0,05
	30' à 37°	30' à 37°	30' à 37°
Hämolytisches Serum	1,0	1,0	1,0
Hammelblutkörperch.	1,0	1,0	1,0
	2 ^a à 37°	30' à 37°	30' à 37°
Resultat	kompl. Hämolyse kompl. Hämolyse kompl. Hämolyse		

Die in dem Versuche b stattgefundene Hämolyse beweist, wie schon gesagt, daß in dem Meningokokkenserum keine spezifischen Meningokokkenambozeptoren enthalten sind. Der Kontrollversuch I bestätigt, daß die Dosis ca. 0,15 Komplement die größte Menge ist, welche das Gonokokkenantigen und das Meningokokkenserum binden können.

Der Kontrollversuch II bestätigt, daß alle im Serum vorhandenen Ambozeptoren von dem Gonokokkenantigen gebunden worden waren, da die neu hinzugefügte Menge Antigen keine freien antraf. Ich wiederholte in gleicher Weise diese Untersuchung für das Gonokokkenserum.

II. Prüfung auf spezifische Gonokokkenambozeptoren im Gonokokkenserum.

a) Bestimmung der durch bestimmte Mengen von Meningokokkenantigen und Gonokokkenserum fixierbaren Komplementmenge.

Reagenzglas	Komplement	Gonokokken-serum	Meningokokken-antigen	Resultat
1	0,05	0,01	0,08	+
2	0,07	0,01	0,08	+
3	0,09	0,01	0,08	\pm
4	0,11	0,01	0,08	—
5	0,13	0,01	0,08	—
6	0,15	0,01	0,08	—
7	0,17	0,01	0,08	—
8	0,19	0,01	0,08	—
9	0,21	0,01	0,08	—

b) Prüfung auf spezifische Ambozeptoren der Gonokokken im Serum des Versuches II.

	Probe	Kontrolle I	Kontrolle II
Meningokokkenantigen	0,08	0,08	0,08
Gonokokkenserum	0,01	0,01	0,01
Komplement	0,09	0,09	0,09
	30' à 37°	30' à 37°	30' à 37°
	Gonok.		Meningok.
Antigen	0,01	0	0,08
Komplement	0,05	0,05	0,05
	30' à 37°	30' à 37°	30' à 37°
Hämolytisches Serum	1,0	1,0	1,0
Hammelblutkörperchen	1,0	1,0	1,0
	2 ^h à 37°	2 ^h à 37°	2 ^h à 37°
Resultat	kompl. Hämolyse	kompl. Hämolyse	kompl. Hämolyse

Durch diese Versuche wird dargetan, daß es mittelst der Komplementbindung nicht gelingt, im Gonokokken- und im Meningokokkenserum, das ich untersuchte, spezifische Ambozeptoren nachzuweisen, sondern nur Koambozeptoren.

Um festzustellen, ob die Ambozeptoren in diesen beiden Seris eine vollständige Identität aufwiesen, untersuchte ich, ob die Ambozeptoren eines Serums eine größere Affinität zu jenem Antigen besäßen, das aus dem Keime, mit welchem das Tier immunisiert worden war, hergestellt worden ist. Ich

versuchte die Dosis des Antigens auf folgende Weise zu vermindern.

Versuch mit Meningokokkenantigen in kleiner Dosis. Antigen A ¹⁾ 0,01.

Meningokokken- antigen A	Menge des Serums	Meningokokkenserum Mailand	Gonokokkenserum Mailand
0,01	0,5	+	+
0,01	0,1	+	±
0,01	0,05	+	—
0,01	0,01	±	—
0,01	0,005	—	—
0,01	0,001	—	—

Dieser erste Versuch schien anfänglich Unterschiede zwischen den Ambozeptoren der beiden Sera darzutun, aber der zweite Versuch sprach gegen diese Deutung, da er dasselbe Ergebnis brachte.

Versuch mit Gonokokkenantigen in kleiner Dosis. Antigen a ²⁾ 0,003.

Gonokokken- antigen a	Menge des Serums	Meningokokkenserum Mailand	Gonokokkenserum Mailand
0,003	0,5	+	+
0,003	0,1	+	±
0,003	0,05	+	—
0,003	0,01	±	—
0,003	0,005	—	—
0,003	0,001	—	—

Daraus ergibt sich, daß die Ambozeptoren des Gonokokkenserums geringere Affinität zu den beiden Antigenen besitzen als die des Meningokokkenserums.

Es ist möglich, daß die verschiedene Herkunft der Keime und die ungleiche Reaktion der immunisierten Tiere Einfluß auf die Ergebnisse der Methode der Komplementbindung haben kann, und dies dürfte die Verschiedenheit zwischen meinen Schlußfolgerungen und denen von Vannod, Krumbein und Schatiloff, Watabiki erklären.

1) Das Antigen war zuerst in der Dosis 0,08 gebraucht worden (siehe Tabelle II).

2) Das Antigen war zuerst in der Dosis 0,01 gebraucht worden (siehe Tabelle I).

Zusammenfassung.

Aus meinen Versuchen geht hervor, daß die Methode der Komplementbindung für die Wertbestimmung des Gonokokken- und Meningokokkenserums keine genügende Gewähr bietet, und daß man sie daher für ungenügend halten muß:

a) der großen Unterschiede wegen, welche die Antigene aufweisen je nach den benutzten Stämmen und den Modalitäten, nach welchen sie hergestellt wurden;

b) wegen der Unmöglichkeit, genau den Wert der Antigene abzuschätzen;

c) weil bisweilen in den Seris keine spezifischen Ambozeptoren enthalten sind, sondern nur Koambozeptoren.

Ich erlaube mir, an dieser Stelle den verehrten Herren Professoren S. Belfanti und A. Ascoli meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen für das Interesse, welches sie diesen Untersuchungen entgegengebracht haben.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Landes-
krankenanstalt in Czernowitz.]

Studien über Hämagglutination.

Von H. Raubitschek.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Februar 1911.)

Bei der auffälligen Differenz in der Wirkung der einzelnen hämagglutinierenden Phytalbumine auf verschiedene Blutarten hat es nicht gefehlt, dieses Verhalten teils spekulativ, teils unter Berücksichtigung entsprechender Versuche zu erklären. Das in dieser Hinsicht recht ähnliche Verhalten der Hämagglutinine des Normalserums wurde in einer Untersuchung von Hirschfeld¹⁾ dahin erklärt, daß der Agglutinationseffekt aus zwei Größen, der dem betreffenden

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 63, 1907, p. 237.

Normalserum allgemein zugehörigen Agglutininstärke und der absoluten Empfindlichkeit der Blutkörperchen, additiv zusammengesetzt ist. Hirschfeld will nämlich beobachtet haben, daß, wenn verschiedene Normalsera auf mehrere Blutarten wirken, dieselbe Reihe der Empfindlichkeit der Erythrocyten in allen Fällen zu beobachten sei, und daß diese Empfindlichkeitsreihe auch für die Hämagglutination durch Abrin und Zinksalze Geltung habe. Diese Annahme steht jedoch in jeder Hinsicht mit den zu beobachtenden Tatsachen im Widerspruch, da nicht die geringste Gesetzmäßigkeit in der Wirkung der einzelnen Phyttagglutinine auf die verschiedensten Erythrocytenarten zu beobachten ist und auch tatsächlich alle möglichen Kombinationen vorkommen.

Malkoff¹⁾ hat sich schon früher mit ähnlichen Problemen beschäftigt. Er benützte die Tatsache, daß die Agglutinine sich bei dem Agglutinationsvorgang mit den Erythrocyten verbinden, zu Versuchen, in denen er ein Normalserum, das auf mehrere Blutarten in verschiedener Intensität hämagglutinierend wirkt, mit den einzelnen Blutarten zusammenbrachte und die überstehende klare Flüssigkeit auf den Gehalt an Agglutininen mit den verschiedenen Blutarten prüfte.

Er konnte so beobachten, daß durch die Behandlung des Normalserums mit einer Blutart der Agglutinationstiter nur für die verwendete Blutart stark oder vollständig abnahm, während das Serum seine Wirkung auf die anderen Blutarten behielt.

Aus seinen Versuchen zog Malkoff den Schluß, daß die Agglutinine zu den von ihnen beeinflussten Erythrocyten eine spezifische Bindungsaffinität haben, und daß in einem normalen Serum, das verschiedene Blutarten zu agglutinieren vermag, so viele spezifische verschiedene Agglutinine vorhanden sind, als Zellarten von dem Serum beeinflusst werden. Wenn auch diese Deutung der Versuchsergebnisse ursprünglich fast allgemein akzeptiert wurde, so haben sich doch später namhafte Stimmen dagegen erhoben. So konnte man z. B. beobachten, daß durch Abspaltung von agglutinierten Blutkörperchen die

1) Deutsche med. Wochenschr., Bd. 26, 1900, p. 229.

so gewonnenen Spaltflüssigkeiten nicht nur für die eine zur Abspaltung verwendete Blutart wirksam ist, was nach Malkoffs Auffassung unbedingt der Fall sein müßte, sondern, wenn auch in geringeren Intensitäten, auf andere Blutarten agglutinierend wirkt. Demnach nimmt bei der Agglutination eine bestimmte Blutart nicht nur ein spezifisches Agglutinin auf, sondern Agglutinine, die auch mit anderen Blutarten reagieren.

Aehnliche Versuche wurden nun in breitestem Umfang auch mit unspezifisch wirkenden pflanzlichen Agglutininen durchgeführt und in allen Fällen beobachtet, daß durch die Behandlung eines Phyttagglutinins mit einer empfindlichen Blutart (Ricin, Bohnen- und Daturaextrakt mit Kaninchen-, Hühner- und Taubenblut) der Titer wohl für die verwendete Blutart besonders stark abnimmt, daß aber auch dadurch die agglutinierende Wirkung auf andere Blutarten in bemerkenswerter Weise geschwächt werden kann, ohne daß jedoch irgendwelche Gesetzmäßigkeit (Gruppenreaktionen bei Vogelblutarten) feststellbar wäre.

Auch durch Abspaltung von durch Ricin agglutinierten Blutkörperchen bei 45° C konnten Spaltungsflüssigkeiten gewonnen werden, die in ähnlicher Weise nicht nur auf die verwendete Blutart agglutinierend wirkten, sondern auch auf mehrere andere Blutarten.

Diese Erscheinungen können zwanglos und plausibel so erklärt werden, daß man auch in den Phyttagglutininen eine nicht anzugebende aber bestimmte Zahl verschiedener Agglutinine supponiert, von denen jedes einzelne die Eigenschaft hat, sich mit sehr vielen verschiedenen Blutarten, aber in ungleichem Maße zu verbinden und parallel damit diese zu agglutinieren. Wird nun ein derartiges, in einem Phytalbumin enthaltenes Agglutiningemenge mit einem bestimmten Blut behandelt, so wird dieses vorwiegend solche Agglutinine daraus absorbieren, zu denen es eine beträchtliche Affinität besitzt und daher nimmt jede Blutart ein anders zusammengesetztes Gemenge von Stoffen auf¹⁾.

1) Vergl. Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr., 1901, 1902.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

Unter diesen Voraussetzungen erschien eine genauere Kenntnis der Verbindungsaffinitäten der einzelnen Blutarten zu den verschiedenen Phyttagglutininen um so wünschenswerter, als die Verhältnisse infolge der großen Differenzen im Verhalten der einzelnen Blutarten zu den Phyttagglutininen und umgekehrt sehr kompliziert zu sein scheinen, die mit einem bloßen Hinweis auf differente Agglutinabilität der einzelnen Blutarten und auf differente Wirksamkeit der einzelnen Pflanzenagglutinine nicht erklärt werden können.

Daß es sich in erster Linie um Affinitätsunterschiede der einzelnen Blutarten zu den verschiedenen Agglutininen handeln müßte, war wohl von vornherein zu postulieren, doch erscheinen genauere Kenntnisse der Affinitätsverhältnisse besonders in quantitativer Richtung wünschenswert, um den Zusammenhang der Agglutinabilität einer Blutart mit ihrer Affinität zum Agglutinin kennen zu lernen.

Um sich nun über die Agglutininmenge Klarheit zu verschaffen, die verschiedene Erythrocytenarten, mit einem Antigen zusammengebracht, binden, wurden ursprünglich die Versuche derart angestellt, daß ein hämagglutinierendes pflanzliches Antigen für zwei Blutarten genau austitriert wurde, die verschieden stark agglutiniert wurden. Durch entsprechende Verdünnung desselben Phyttagglutinins wurden nun zwei agglutinierende Flüssigkeiten gewonnen, die gleich stark auf die betreffenden zwei Blutarten wirkten.

Wurde nun zu jeder der beiden Flüssigkeiten dieselbe Menge gewaschenen Blutes gegeben und nach entsprechender Bindungszeit die überstehende klare Flüssigkeit auf Agglutiningehalt geprüft, so hätte man über die Menge des von jeder verwendeten Blutart gebundenen Agglutinins zahlenmäßige Anhaltspunkte gewinnen können. Diese Versuchsanordnung schließt jedoch einen derartig störenden Versuchsfehler in sich, daß die Resultate unverwendbar erscheinen. Bei der immerhin ausgesprochenen Absorptionsspezifität der einzelnen Blutarten zu den dargebotenen Agglutininen kann weder die ursprünglich zur Absorption benützte, noch irgendeine andere Blutart zur Feststellung des Agglutiningehaltes verwendet werden, so daß die derartig gewonnenen Resultate

inkommensurabel und für diese Zwecke unverwendbar erscheinen.

So haben z. B. genaue Titrations gezeigt, daß eine Ricinlösung 84 mal stärker auf Kaninchenblut wirkt als auf Hammelblut. Deswegen wurden zu 10,0 $\frac{1}{10}$ -Ricinlösung 0,5 einer gewaschenen Hammelblutaufschwemmung, zu 10,0 $\frac{1}{840}$ -Ricinlösung dieselbe Menge Kaninchenblut gegeben und nach zweistündiger Bindungszeit bei Zimmertemperatur versucht, sich über den Agglutiningehalt der klaren überstehenden Flüssigkeiten zu informieren.

Aus einleuchtenden Gründen kann man unter keinen Umständen durch Titration mit irgendeiner Blutart (Kaninchen, Schaf oder irgendeiner anderen Art) Werte gewinnen, die einen Vergleich der in beiden überstehenden Flüssigkeiten noch vorhandenen absoluten Agglutininmengen gestatten würden, mit anderen Worten: erfahren, welche der beiden Blutarten absolut mehr Agglutinin gebunden hat.

Zur Lösung dieser Frage mußte deshalb eine andere Versuchsanordnung getroffen werden, indem eine Blutart verwendet wurde, die von zwei verschiedenen pflanzlichen Agglutininen verschieden stark agglutiniert wird. Von den zahlreichen hier geprüften Kombinationen sei der Versuch mit Datura- resp. Abrinextrakt: Hühnerblut genauer wiedergegeben.

Vorversuche haben gezeigt, daß Daturaextrakt ca. 10mal stärker auf Hühnerblut wirkt als Abrin ¹⁾.

Zu 5,0 $\frac{1}{10}$ Daturaextrakt und 5,0 $\frac{1}{1}$ Abrin wurde 0,5 eines gewaschenen Hühnerblutbreies gegeben und nach 4-stündiger Bindungszeit bei Zimmertemperatur klar zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit gleichzeitig mit den ursprünglichen Extraktverdünnungen mit gewaschener Hühnerblutaufschwemmung titriert.

Abgelesen nach 2^h Verweilen in der Brutkammer und einer Nacht im Eiskasten. Die einfachen + -Zeichen bedeuten Agglutinationserscheinungen, die nur mikroskopisch erkennbar sind.

1) Um halbwegs vergleichbare Resultate bezüglich der Wirksamkeit der verwendeten Samenextrakte zu erhalten, wurden dieselben ausnahmslos im Laboratorium selbst derart hergestellt, daß ein Gewichtsteil Samenmehl mit 10 Gewichtsteilen NaCl durch 48^h in der Kälte belassen, hierauf klar filtriert und im gefrorenen Zustande aufbewahrt wurde.

21 *

Tabelle I.

	Vor der Absorption		Nach der Absorption	
	$\frac{1}{10}$ Datura	$\frac{1}{1}$ Abrin	$\frac{1}{10}$ Datura	$\frac{1}{1}$ Abrin
0,01	+++	+++	++	+++
0,008	+++	+++	++	+++
0,006	+++	+++	+	+++
0,004	+++	+++	+	+++
0,002	+++	+++	Spur	++
0,001	+++	+++	θ	++
0,0008	++	++	θ	++
0,0006	++	++	θ	+
0,0004	+	+	θ	+
0,0002	θ	Spur	θ	θ
0,0001	θ	θ	θ	θ

Bevor die Versuchsergebnisse, die in Tabelle I wiedergegeben sind, kritisch gewürdigt werden, sei der Uebersicht halber gleich hier noch ein zweiter analoger Versuch ausführlicher wiedergegeben (Tabelle II), der mit Abrin, Ricin: Schafblut angestellt wurde, weil in dieser Kombination Abrin eine stärkere agglutinierende Wirkung entfaltet als Ricin.

Besonders hervorgehoben zu werden verdient, daß die verwendete Ricinlösung auf Hühnerblut fast genau so wirksam war wie der Daturaextrakt.

Die Vorversuche ergaben, daß Abrin auf Schafblut 15mal stärker wirkt als Ricin.

Da die Technik dieses Versuches analog dem Erstgeschilderten war, so sei nur kurz hervorgehoben, daß zu 4,0 $\frac{1}{10}$ Ricin und zu 4,0 $\frac{1}{150}$ Abrin je 0,5 eines gewaschenen Hammelblutbreies gegeben und nach 4^h Bindungszeit bei Zimmertemperatur klar zentrifugiert und die überstehenden Flüssigkeiten gleichzeitig mit den Kontrollen („vor der Absorption“) mit gewaschener Hammelblutaufschwemmung titriert wurden.

Beobachtungszeit und Zeichen wie in Tabelle I.

Tabelle II.

	Vor der Absorption		Nach der Absorption	
	$\frac{1}{10}$ Ricin	$\frac{1}{150}$ Abrin	$\frac{1}{10}$ Ricin	$\frac{1}{150}$ Abrin
0,1	+++	+++	+++	+
0,08	+++	++	++	θ
0,06	++	++	+	θ
0,04	+	+	Spur	θ
0,02	Spur	θ	θ	θ
0,01	θ	θ	θ	θ
0,008	θ	θ	θ	θ

Aus dem in der Tabelle I geschilderten Versuch geht hervor, daß dieselbe Blutart je nach ihrer Agglutinabilität verschieden große Mengen Agglutinin zu binden imstande ist, auch wenn beide agglutinierenden Flüssigkeiten durch entsprechende Verdünnung in derselben Wirksamkeit den Erythrocyten ausgesetzt werden, daß also die Intensität der Hämagglutination durch ein Phytalbumin, vor allem durch eine charakteristische Avidität des Rezeptorenapparates der empfindlichen Erythrocyten bestimmt wird, oder mit anderen Worten: daß die Differenz im Verhalten der einzelnen Blutarten zu den verschiedenen Phyttagglutininen neben bestimmten Eigenschaften der hämagglutinierenden Antigene vor allem von ganz charakteristischen Affinitäten der Erythrocyten abhängig ist.

Dies tritt besonders klar durch den zweiten ergänzenden Versuch hervor, der in Tabelle II wiedergegeben ist. Hier wurde Ricin und Abrin verwendet; Ricin ergab dieselbe agglutinatorische Wirksamkeit auf Hühnerblut wie Datura, bildet also in gewissem Sinne das Bindeglied zwischen beiden Versuchen; im ersten war aber Abrin die schwächer wirkende Flüssigkeit, und wurde demnach auch weniger von Hühnerblut gebunden, im zweiten Versuch wirkte Abrin stärker auf Schafblut als Ricin, und wurde auch von dieser Blutart wesentlich intensiver absorbiert als Ricin, so daß die überstehenden Flüssigkeiten eine ausgesprochene Differenz im Agglutinin-gehalt erkennen lassen.

Der Einwand, daß bekanntlich die Menge der adsorbierten Substanzen *ceteris paribus* vom Verdünnungsgrad abhängig ist, in dem die Adsorption stattfindet, daß also die stärkere Adsorption von Datura (in Tabelle I) und von Abrin (in Tabelle II) auf die stärkere Verdünnung zu beziehen ist, wurde dadurch zu entkräften versucht, daß in einigen Parallelversuchen nicht physiologische Kochsalzlösung zur Verdünnung der Phyt-agglutinine verwendet wurde, sondern ein bezüglich der Häm-agglutination indifferenten Samenextrakt (aus Maismehl). Da auch diese Versuche gleichsinnig ausfielen, erscheinen die ausführlich wiedergegebenen Experimente und deren Resultate in dieser Beziehung verwertbar und einwandsfrei.

Unter der Voraussetzung, daß die Agglutinabilität der Erythrocyten die Folge einer gewissen Affinität ist, die der Rezeptorenapparat der Blutkörperchen zu einem bestimmten

Phyttagglutinin aufweist, müßten die im nachfolgenden angeführten Experimente zu Resultaten führen, die als weitere Stütze für diese Annahme gelten können.

In einer früheren kurzen Mitteilung¹⁾ wurde auf die hohe Verbindungsfähigkeit hingewiesen, die gewisse Albumosen (Pepton) zu den Phyttagglutininen haben. Diese Affinität ist besonders ausgesprochen und bildet in gewissen Grenzen bei allen darauf untersuchten pflanzlichen Hämagglutininen eine Konstante. In der Voraussetzung nun, daß die Affinität der verschiedenen Erythrocytenarten zu den einzelnen Phyttagglutininen für jede Blutart charakteristisch ihre Agglutinabilität bedingt, mußte eine bestimmte Menge einer Peptonlösung, zu gleichen Mengen eines Phyttagglutinins zugesetzt, auffällige Differenzen ergeben, je nach der Empfindlichkeit und Affinität der Blutart zu dem betreffenden Agglutinin.

Im nachstehenden sei ein derartiger Versuch ausführlich wiedergegeben.

Genaue Titrationen ergaben, daß unser Daturaextrakt ca. 12mal stärker auf Kaninchenblut wirkt als Abrin. Durch entsprechende Verdünnungen wurden nun Abrin und Daturaextrakt für Kaninchenblut auf denselben Titer eingestellt, und zu fallenden Mengen einer 10-proz. lackmusneutralen Peptonlösung in jedes Röhrchen 100 Agglutinineinheiten von Abrin bzw. Daturaextrakt (in einer Menge von 0,1 Flüssigkeit) zugesetzt und nach 1-stündigem Verweilen in der Brutkammer mit gleichen Mengen gewaschenen Kaninchenblutes titriert. Abgelesen nach 2-stündigem Verweilen bei 37° C und einer Nacht im Eiskasten.

Tabelle III.

Peptonlösung (10-proz.)	In jedes Röhrchen je	
	0,1 Abrinverdünnung (100 AE.)	0,1 Daturaextraktver- dünnung (100 AE.)
1,0	⊖	+
0,9	⊖	++
0,8	⊖	+++
0,7	⊖	+++
0,6	⊖	+++
0,5	+	+++
0,4	+	+++
0,3	++	+++
0,2	+++	+++
0,1	+++	+++
Kontrolle Daturaextrakt	+++	
Kontrolle Abrin		+++

1) Wiener klin. Wochenschr., Bd. 22, 1909, p. 1065.

Stellt man demnach zwei verschiedene Pflanzenagglutininlösungen durch entsprechende Verdünnung für eine Blutart auf denselben Titer ein, so wird trotz der gleichen Wirksamkeit der beiden Agglutinine diejenige durch eine Wittepeptonlösung stärker gehemmt werden, die ursprünglich die geringere Wirksamkeit gegenüber der verwendeten Blutart aufwies. In Uebereinstimmung hiermit wird bei der größeren Affinität dieser Blutart zur anderen Agglutininlösung der hemmende Einfluß derselben Peptonmenge nicht so stark in Erscheinung treten, trotzdem durch die entsprechende Verdünnung beide Agglutininlösungen auf diese Blutart gleichstarke Wirksamkeit haben. Daraus geht also hervor, daß die Agglutinabilität einer Blutart durch ein Phyttagglutinin vor allem von der Affinität abhängt, die diese Blutart zu dem pflanzlichen Agglutinin aufweist, eine Verbindungsfähigkeit, die auch dann noch ganz auffallend und charakteristisch ist, wenn man zwei different auf diese Blutart wirksame Phyttagglutinine durch entsprechende Verdünnungen auf denselben Titer (Wirksamkeit) einstellt.

Diese Verschiedenheit der Verbindungsfähigkeit zweier Blutarten zu demselben pflanzlichen Agglutinin muß auch in Erscheinung treten, falls man einen agglutinierenden Samenextrakt für zwei verschieden empfindliche Blutarten titriert und sich dann eine Mischung beider Blutarten anfertigt und die Wirksamkeit des Extraktes mit gleichen Blutmengen prüft ¹⁾.

In diesen Versuchen wurde Ricin für eine 5-proz. Schafblut- und eine 5-proz. Hühnerblutaufschwemmung titriert und ebenso für eine Blutmischung, die zu gleichen Teilen aus den genannten gewaschenen Blutarten bestand. Das Resultat wurde (nach 2-stündigem Verweilen der Röhrchen in der Brutkammer) nach einer mikroskopischen Untersuchung bestimmt.

1) Landsteiner erwähnt in einer Fußnote (Handbuch d. Biochemie, herausg. von C. Oppenheimer, Bd. 2, I. Teil, p. 400): „Läßt man Ricin auf Mischungen von zwei Blutarten einwirken, so enthalten die Klumpen Körperchen beider Arten, während bei der Serumagglutination wahrscheinlich wegen der größeren Spezifität dieser Stoffe die einzelnen Aggregate vorwiegend aus einer Blutart gebildet werden.“

Tabelle IV.

Ricin-verdünnung	5-proz. Schafblut	5-proz. Hühnerblut	5-proz. Blutmischung
0,1	+++	+++	Größere Klumpen aus Hühnerblut, daran angelagert Schafblut, zahlreiche kleine Schafbluthäufchen, spärlich einzelne Schafblutkörperchen, keine einzelnen Hühnerblutkörperchen
0,08	+++	+++	
0,06	+++	+++	
0,04	+++	+++	
0,02	++	+++	Ganz vereinzelte Schafbluthäufchen, massenhaft einzelne Schaferythrocyten, keine einzelnen Hühnerblutkörperchen
0,01	++	+++	
0,008	++	+++	Keine Schafbluthäufchen, ausschließlich Hühnerbluthäufchen, keine vereinzelt Hühnerblutkörperchen, Schafblut durchwegs einzeln. Anlagerung von Schafblut an Hühnerbluthäufchen sehr selten
0,006	+	+++	
0,004	θ	+++	
0,002	θ	++	
0,001	θ	++	Schafblut durchwegs einzeln liegend, ganz vereinzelte Hühnerbluthäufchen ohne Anlagerung von Schaferythrocyten, massenhaft einzelne Hühnererythrocyten
0,0008	θ	++	
0,0006	θ	++	
0,0004	θ	+	Hühnererythrocyten fast durchwegs einzeln
0,0002	θ	+	
0,0001	θ	θ	

Nach dem Ausfall dieses Versuches wirkt demnach Ricin auf eine Blutmischung, die aus zwei sehr verschieden empfindlichen Blutarten zusammengesetzt ist, nur in bestimmter Verdünnung (relativ hohen Konzentrationen), übereinstimmend mit Landsteiners Beobachtungen. In höherer Verdünnung ist die Tendenz, nur Agglomerate homologer Blutkörperchen zu bilden, unverkennbar, so daß auch hier in einem gewissen Sinn der Einfluß einer bestimmten Spezifität wahrzunehmen ist. Ueberdies ist es auffallend, daß die Wirksamkeit des Ricins auf Schafblut in der Versuchsreihe, wo reines Schafblut agglutiniert wurde, höher ist (0,006) als in der Versuchsreihe, in der neben Schafblut auch gleiche Mengen des avideren Hühnerblutes von Ricin beeinflusst wurden (0,01). Diese Erscheinung ist zwanglos mit der gleichzeitigen Anwesenheit des empfindlicheren (i. e. avideren) Hühnerblutes zu erklären, das von den zur Verfügung stehenden Agglutininmengen in derselben Zeit mehr an sich bindet als Schafblut.

Die in diesen Ausführungen niedergelegte, experimentell gewonnene Auffassung von dem engen Zusammenhang zwischen Agglutinabilität und Bindungsvermögen (auch in quantitativer Richtung) der empfindlichen Erythrocytenarten steht in gutem Einklang mit Landsteiners Hypothese (Normalserum). So muß man auch annehmen, daß in einem Phyttagglutinin (Samen-extrakt) eine bestimmte Anzahl verschiedener Agglutinine vorhanden ist, von der jedes einzelne die Eigenschaft hat, sich mit vielen Blutarten, aber in ungleicher Masse, zu verbinden. Diese Differenz in der Agglutinabilität der verschiedenen Erythrocytenarten beruht aber auf einer bestimmten Avidität (Verbindungsvermögen) der roten Blutkörperchen, die, für jedes einzelne Pflanzenagglutinin eine charakteristische Größe, jedoch sowohl bezüglich des Agglutinins als auch der agglutinablen Substanz je nach der Species der reagierenden Stoffe wechselt.

Zusammenfassung.

Die weitgehenden Differenzen im Verhalten der einzelnen Erythrocytenarten zu den verschiedenen Hämagglutininen pflanzlicher Provenienz machen sich auch dann geltend, wenn man zwei different wirksame Agglutinine für eine Blutart durch eine entsprechende Verdünnung auf denselben Titer einstellt. In dieser Versuchsanordnung gelingt es, die Menge des von einer Erythrocytenart verankerten Agglutinins zu bestimmen und festzustellen, daß unter sonst gleichen Bedingungen die empfindlichere Blutart mehr Agglutinin zu verankern imstande ist als die weniger empfindliche.

Nachdruck verboten.

[Travail du laboratoire de médecine expérimentale de la faculté
de médecine de Bucarest.]

Résultats favorables obtenus grâce à l'emploi de la vaccination antianaphylactique par la méthode de Besredka au cours de l'immunisation des chevaux.

Par le Dr. M. Ciuca.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. März 1911.)

Rosenau-Anderson et Otto d'une part, Besredka-Steinhardt de l'autre, interprétant les phénomènes d'anaphylaxie sérique, croyaient d'abord que le sérum renfermait une substance toxique; plus tard Besredka, voyant apparaître l'immunité après une seule injection et dès le lendemain, comparait le phénomène de l'antianaphylaxie à une sorte d'interférence physique — le phénomène différant complètement de celui de l'immunité — car en multipliant les injections on sensibilise l'animal au lieu de le vacciner.

En Juin 1907 Besredka préconise comme moyen d'empêcher l'anaphylaxie sérique l'emploi du sérum chauffé.

Il pensait également, qu'en narcotisant les animaux on évitait l'anaphylaxie.

On ne tarda pas à tirer profit de cette importante communication, entre autres A. Ciuca et Alexandrescu ont appliqué avec succès ce procédé à la séro-vaccination d'un grand nombre d'animaux (séro-vaccination anticharbonneuse).

Comme parfois l'injection antianaphylactique n'était pas complètement exempte de danger pour l'animal, à cause de la quantité trop grande de vaccin, Besredka a imaginé avec beaucoup de succès le procédé des injections subintrantes en fractionnant de cette manière la dose de vaccin antianaphylactique.

L'efficacité de cette méthode a été également confirmée par les recherches de Cruveilhier relatives aux bacilles

diphthériques et aux gonocoques; par celles de Briat et Dopter relatives aux méningocoques.

Depuis 1905 date à laquelle j'ai été chargé par la direction du laboratoire de la préparation des sérums antistreptococcique et antidysentérique, j'ai eu l'occasion d'observer jour par jour les chevaux en voie d'immunisation. De cette manière j'ai eu la possibilité de me convaincre que chez la plupart des animaux qui mourraient aux cours des vaccinations, la mort était due à un phénomène d'hypersensibilisation.

C'est alors que d'après les conseils de M. le Professeur Cantacuzène, nous avons appliqué la méthode antianaphylactique de M. Besredka, consistant dans l'injection intraveineuse d'un dixième ou d'un vingtième de la dose vaccinale, dix minutes avant l'injection totale de microbes ou de toxines. —

Parfois nous avons usé aussi du système des vaccinations subintrantes en fractionnant la dose. Voici le résultat de nos observations:

Pour la préparation du sérum antistreptococcique polyvalent, nous injectons aux chevaux par voie intraveineuse des streptocoques très virulents pour l'homme, isolés pour la plupart de cas mortels et n'ayant subi aucun passage par les animaux de laboratoire. Les streptocoques sont cultivés sur gélose — sérum dans des boîtes de Roux, chaque race ne sert à l'immunisation des chevaux que 6 à 8 mois, puis on la remplace au fur et à mesure que l'on peut se procurer une race virulente nouvelle.

Au début de notre pratique nous injectons une simple émulsion microbienne dans l'eau physiologique.

Nous abandonnâmes bientôt cette méthode qui fut remplacée par le procédé préconisé par M. Besredka pour l'obtention de l'endotoxine.

A 0,15 centigrammes de corps microbiens, bien lavés à l'eau physiologique, on ajoute 10 c. c. d'un mélange de sérum de cheval normal et d'eau distillée en parties égales.

L'émulsion est conservée 24 heures à la glacière.

L'intervalle entre deux injections successives varie de 14 à 21 jours, selon que l'animal met plus ou moins de temps pour se remettre complètement. De cette façon un cheval

arrive à recevoir d'un seul coup le contenu de 8 boîtes de Roux. —

Avant l'emploi du procédé antianaphylactique sur 5 chevaux nous en avons perdu 3 (Ella^I, Pierrot et Noir^I) avec des phénomènes classiques d'anaphylaxie: deux minutes après l'injection le cheval commence à hennir, chancelle sur le train postérieur qui fléchit de plus en plus; l'animal angoissé fait des efforts pour se maintenir sur ses jambes et s'il n'y réussit pas, tombe définitivement de côté; après une période très courte de convulsions faibles, localisées surtout au train antérieur, l'animal se raidit, les mouvements respiratoires se réduisent de plus en plus, deviennent plus fréquents; la cornée devient insensible; après 7 à 10 minutes l'animal meurt.

Outre ces accidents mortels au cours des vaccinations nous avons observé fréquemment des phénomènes de titubation, de hennissement etc.; après quoi les chevaux se remettaient à la suite d'aspersions à eau froide et de flagellations, mais nous n'avons jamais pu faire revenir à lui un cheval déjà complètement tombé par terre.

Les deux autres (Herro et Florin) ont été tués à cause d'un état de cachexie profonde, consécutif à une polyarthrite streptococcique; cette dernière affection est assez fréquente chez les chevaux que l'on vaccine contre le streptocoque. —

Chez 6 autres chevaux (Vio, Elsa, Adina, Geta, Ella^{II}, Negra) nous avons appliqué le système de la vaccination anti-anaphylactique d'après le procédé indiqué plus haut.

Nous n'avons plus dès lors observé de phénomènes d'hypersensibilisation.

Ella^{II} et Negra sont mortes: la première de cachexie consécutive à une polyarthrite; la deuxième est tombée par terre 5 jours après la saignée habituelle (8 litres de sang) et n'a plus pu se relever; on l'a tuée à cause d'escharres étendues et multiples.

En outre du grand avantage d'éviter la mort des animaux, le système de vaccination de M. Besredka en présente encore quelques autres:

Ainsi la température, qui chez les chevaux lors de l'emploi de notre méthode primitive, montait lentement et se maintenait 3—4 jours; après l'injection antianaphylactique monte immédiatement et tombe presque régulièrement en 18 heures. L'état général de l'animal se maintient bon; il n'est plus abattu comme avec l'autre méthode; il conserve sa vivacité et son appétit.

Pour la préparation du sérum antidysentérique nous employons des cultures en bouillon fortement alcalinisé de plusieurs races de bacilles dysentériques.

On injecte alternativement des cultures jeunes (1 jour) et vieilles (2—4 semaines à 37°). Les inoculations se font dans la veine; les chevaux ont commencé à recevoir préalablement à sept jours d'intervalle 4 à 5 injections sous la peau.

Au début nous mettions un intervalle d'une semaine entre les injections intraveineuses; dans ces conditions les accidents anaphylactiques étaient, il est vrai, assez rares, mais les chevaux se cachectisaient rapidement. Depuis nous avons espacé les injections de 14 à 21 jours.

Les accidents anaphylactiques sont dès lors devenus très fréquents et sur 7 chevaux 6 sont morts en présentant des phénomènes classiques d'anaphylaxie (Zarif, Cobzar, Florizel, Spuma, Muscalu, Noir^{II}); le septième, Zarif II, est mort cachectisé.

En dehors de ces accidents mortels, chaque injection était suivi de certains phénomènes réactionnels: la température qui dépassait rarement 39°, s'accompagnait régulièrement d'un état général assez mauvais; l'animal restait couché, avec une dyspnée assez évidente et ne mangeait pas durant 12 heures. Quand on arrivait à des doses de 30 à 40 c. c. de culture d'un coup apparaissaient des phénomènes prémonitoire de l'hypersensibilisation: selles diarrhéiques débutant 2—4 minutes après l'injection et durant pendant 6 heures environ.

Depuis l'emploi de l'injection antianaphylactique ($\frac{1}{10}$ de la dose totale) sur 6 chevaux (Mélanie, Dora, Vera, Sylvia,

312 M. Ciuca, Résultats favorables obtenus grâce à l'emploi etc.

Odette et Hania) nous n'avons eu à compter jusqu'à présent aucun accident anaphylactique.

Après l'injection antianaphylactique les animaux présentent une ascension thermique de 39° à 40°, cette température ne se maintient pas plus de 12 heures; l'état général est bon pendant tout ce temps. Une seule fois Dora a eu après l'injection un peu d'étourdissement qui n'a duré que 2—3 minutes.

Il résulte donc de nos observations personnelles que l'injection préventive d'antigène microbien ($\frac{1}{10}$ de la dose totale), constitue un moyen des plus efficaces pour empêcher les accidents anaphylactiques mortels de se produire au cours des immunisations antimicrobiennes. De plus elle réduit de beaucoup la période febrile et supprime à peu près complètement le mauvais état général qui persiste d'ordinaire quelques jours après l'injection des grandes doses.

Zusammenfassung.

Bei Pferden, die mit Bakterien immunisiert werden, tritt häufig Anaphylaxie auf. Diese wird durch Vorimpfung mit kleinen Dosen des betreffenden Antigens (Methode Besredka) verhütet. (F.)

Littérature.

Besredka, Annales de l'Institut Pasteur, 1910, No. 11.

Alexandresco et Ciuca, Antianaphylaxie par la méthode de Besredka.
C. R. Soc. Biologie, 1910, No. 13.

Nachdruck verboten.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

**Quelques recherches avec les antisérums pour l'albumine
du sang et de l'œuf de poule.**

Par **B. Galli-Valerio.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. März 1911.)

Depuis la publication à Cambridge en 1904, de l'important travail de Nuttall: Blood immunity and blood relationship, l'étude des précipitines, grâce surtout à Uhlenhuth, a fait de très grands progrès, mais, à de rares exceptions près, les précipitines ont été très peu appliquées à l'étude de la zoologie à laquelle elles peuvent pourtant rendre de grands services¹⁾. Ayant à ma disposition une certaine quantité de sangs desséchés sur papier, dont quelques-uns non expérimentés même par Nuttall, ainsi que de l'albumine d'œuf de poule et d'œuf d'*Emys europaea*, je les ai soumis à l'action du sérum de 2 lapins, immunisés respectivement avec du sang et avec de l'albumine d'œuf de poule.

Myers²⁾ ayant immunisé le lapin avec l'albumine cristallisée de l'œuf de poule, a obtenu un sérum précipitant cette même albumine, plus faiblement celle de l'œuf de cane, et pas du tout les albumines des mammifères.

Uhlenhuth³⁾ immunise le lapin avec le blanc d'œuf de poule et obtient un sérum qui détermine un précipité même dans des dilutions à 1 : 100 000 du même blanc d'œuf. Ce sérum précipite aussi, mais moins, l'albumine de l'œuf de pigeon. D'une façon analogue, se comporte un sérum provenant d'un lapin immunisé avec le blanc d'œuf de pigeon.

1) B. Galli-Valerio, Rôle de la pathologie expérimentale dans la classification zoologique et botanique. Bull. Soc. Vaudoise des Sc. Nat., T. 42, 1906, p. 65.

2) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 28, 1900, p. 237. (Travail daté du 22 Juin 1900.)

3) Deutsche med. Wochenschr., 1900, p. 734, 15. Nov.

Aucune autre albumine n'est précipitée par ces sérums. Mais dans un travail successif, Uhlenhuth¹⁾ constate que le sérum d'un lapin immunisé avec le blanc d'œuf de poule, précipite aussi l'albumine du sang de poule et, plus faiblement, celle du sang d'oie. Ce sérum, détermine en outre un précipité identique dans l'albumine de l'œuf d'oie, de cane et de pintade et, plus léger, dans celui de l'œuf de pigeon. Le sérum d'un lapin traité par le blanc d'œuf d'oie, détermine un fort précipité dans le sang de l'oie, faible dans celui de la poule, fort dans l'albumine de l'œuf d'oie et de cane, faible dans celle de l'œuf de poule, de pintade et de pigeon. Soviel geht jedoch aus den bisherigen Untersuchungen schon hervor, conclut Uhlenhuth, daß in Hühner-, Gänse-, Enten-, Perlhuhn- und Taubeneiern zum Teil dieselben Eiweißstoffe vorhanden sind, die sich auch zum Teil im Blut dieser Vögel wieder finden.

Nuttall²⁾ reprenant toutes ces recherches et travaillant avec un matériel extrêmement riche établit:

1° Que l'antisérum pour le sang d'un oiseau donné précipite l'albumine du sang de tous les autres oiseaux et, s'il est suffisamment actif, aussi celle de l'œuf des oiseaux. Il a aussi une certaine action sur le sang de quelques reptiles, mais aucune sur celui de toutes les autres classes de vertébrés.

2° Que l'antisérum pour l'albumine de l'œuf de poule, donne un précipité surtout avec la même albumine, mais aussi, bien que moindre, avec celle d'autres œufs d'oiseaux et avec celle du sang des oiseaux, et de quelques reptiles. Cet antisérum n'a aucune action sur l'albumine du sang des mammifères, des amphibiens et des poissons.

Das le même travail Graham-Smith³⁾, appliquant la méthode quantitative, a aussi constaté qu'un antisérum actif pour l'albumine de l'œuf d'oiseaux, donne un fort précipité dans les dilutions d'albumine d'œufs d'oiseaux et aussi, bien que

1) Deutsche med. Wochenschr., 1901, p. 260, 25 avril.

2) Travail cité.

3) Nuttall, Travail cité, p. 336.

moins fort, dans le sang de certains reptiles et dans les dilutions d'albumine d'œufs de reptiles.

Au contraire, cet antisérum, ne donne aucune réaction importante avec l'albumine de l'œuf des amphibiens et des poissons ni avec le sang de lacertiens, ophidiens, amphibiens, poissons et crustacés.

Pour mes recherches, j'ai immunisé deux lapins, en les inoculant dans la cavité abdominale, l'un avec du sang de poule défibriné, l'autre avec le blanc d'œuf de poule battu dans la solution physiologique, suivant la technique indiquée par Uhlenhuth¹⁾. Les 2 sérums précipitants ainsi obtenus, sérums qui étaient actifs à 1:10 000, ont été mis en présence de dilutions de taches de sang et d'albumine desséchée d'œuf de poule et d'œuf de *E. europaea*, préparées suivant la technique indiquée par Uhlenhuth et Weidanz²⁾. Toutes les expériences, pratiquées au courant des mois de Décembre 1910 et de Janvier 1911, ont été faites avec des sérums précipitants frais. Quelques-unes ont été répétées avec des sérums conservés soit sans adjonction d'antiseptiques, soit avec le chloroforme ou avec le toluol, et elles ont donné les mêmes résultats. La technique suivie a été celle de Carnwath³⁾.

Le moment de l'apparition de l'anneau de précipité, sa dimension étaient soigneusement notés et, dans une série d'expériences j'ai mesuré la hauteur du dépôt consecutive-ment formé au fond de l'éprouvette.

Je résume dans un tableau les résultats obtenus, tableau dans lequel:

+++	indique très forte réaction.
+++	„ forte reaction,
++	„ réaction moyenne,
+	„ „ faible,
±	„ „ très faible,
—	„ absence de réaction.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1900, p. 734, 15. Nov.

2) Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweiß-differenzierungsverfahrens, Jena 1909.

3) Idem, p. 53.

Espèces ¹⁾	Nature du matériel	Antisérum pour		Observations
		le sang (A. S.) de la	l'albumine de l'œuf (A. O.) poule	
I. Mammalia				
a) Primates				
1. Homo sapiens	Sang du 17. V. 10	—	—	
b) Chiroptera				
1. Plecotus auritus	„ „ 20. VIII. 09	—	—	
c) Insectivora				
1. Erinaceus europaeus	„ „ 18. I. 06	—	—	
2. Crocidura aranea S	„ „ 28. X. 05	—	—	
d) Carnivora				
1. Felis domestica	„ „ 30. XI. 10	—	—	
2. Mustela foina	„ „ 1. XI. 10	—	—	
e) Rodentia				
1. Myoxus avellanarius	„ „ 12. X. 05	—	—	
2. Mus decumanus	„ „ 4. II. 10	—	—	
3. „ rattus	„ „ 23. XII. 08	—	—	
4. „ sylvaticus	„ „ 5. XII. 10	—	—	
5. „ musculus	„ „ 26. I. 10	—	—	
6. Arvicola nivalis S	„ „ 1. 11	—	—	
7. Lepus timidus	„ „ 3. I. 09	—	—	
II. Aves				
a) Passeres oscines				
1. Corvidae				
1. Pyrrhocorax alpinus S	Sang du 25. IX. 10	+	±	
		presque immé- diate	après 2'	
		Dépôt: traces.	Dépôt: 0	
2. Fringillidae				
1. Passer domesticus (jeune)	„ „ 11. IV. 10	idem	idem	
3. Alaudidae				
1. Alauda arborea S	„ „ 23. III. 10	idem	idem	
4. Motacillidae				
1. Agrodroma campestris S	„ „ 12. IX. 10	idem	idem	
2. Budytes flavus S	„ „ 17. IX. 10	idem	idem	
5. Turdidae				
1. Saxicola oenanthe	„ „ 12. IX. 10	idem	idem	
2. Erithacus rubecula	„ „ 20. III. 10	idem	idem	
3. Ruticilla phoenicurus	„ „ 16. IX. 10	idem	idem	
4. „ „	„ „ 17. IX. 10	idem	idem	
5. „ „	„ „ IX. 05	idem	idem	
6. Pratincola rubetra	„ „ 16. IX. 10	idem	idem	
7. „ „	„ „ 17. IX. 10	idem	idem	
				Réaction un peu plus faible qu'a- vec les nos. 3 et 4, ce sang étant peu soluble.

Réaction un peu plus faible qu'avec les nos. 3 et 4, ce sang étant peu soluble.

1) Les espèces suivies du signe S sont celles non expérimentées ni par Nuttall ni par Graham-Smith.

Espèces	Nature du matériel	Antisérum pour le sang (A. S.) de la	l'albumine de l'œuf (A. O.) poule	Observations
6. Silvidae				
1. <i>Phylloscopus trochilus</i> S	Sang du 16. IX. 10	+ presque immé- diate Dépôt: traces	± après 2' Dépôt: 0	
7. Paridae				
1. <i>Parus major</i>	" " 24. IX. 10	idem	idem	
2. " "	" " X. 05	idem	idem	
8. Sittidae				
1. <i>Sitta caesia</i>	" " 24. IX. 10	idem	idem	
9. Lanidae				
1. <i>Lanius collurio</i>	" " 16. IX. 10	idem	idem	
10. Muscicapidae				
1. <i>Muscicapa collaris</i> S	" " 16. IX. 10	idem	idem	
11. Hirundinidae				
1. <i>Hirundo rustica</i> S	" " IX. 05	idem	idem	La réaction a été un peu plus faible et plus lente que dans les cas précédents, car ce sang était peu soluble.
b) Accipitres				
1. Falconidae				
1. <i>Aquila chrysaëtus</i> (jeune)	" " 29. VII. 10	idem	idem	
c) Galliformes				
1. Gallinae				
1. <i>Gallus domesticus</i> ♀	" " 25. IX. 10	+++ immédiate Dépôt: 2 m. m.	+++ presque immé- diate Dépôt: 1/2 m. m.	
	Albumine œuf 3. XII. 10	+++ presque immé- diate Dépôt: 1/2 m. m.	+++ immédiate Dépôt: 2 m. m.	
2. " " ♂	Sang du 4. III. 10	+++ immédiate Dépôt: 2 m. m.	++ presque immé- diate Dépôt: traces.	
3. <i>Meleagris gallopavo</i> ♂	" " 24. XII. 10	+++ presque immé- diate Dépôt: 1/2 m. m.	+ après 2' Dépôt: pas me- surable	
4. <i>Phasianus colochicus</i>	" " 5. XII. 05	idem	idem	Réaction un peu plus faible que chez l'espèce précédente, le sang étant peu soluble.

Espèces	Nature du matériel	Antisérum pour		Observations
		le sang (A. S.) de la	l'albumine de l'œuf (A. O.) poule	
5. <i>Lyrurus tetrix</i> ♂	Sang du 18. IX. 10	+++ presque immé- diate Dépôt: 1 m.m.	+ après 2' Dépôt pas me- surable	
d) Limicolae 1. Scolopacidae 1. <i>Scolopax rusticola</i>	„ „ 27. IX. 10	+ presque immé- diate Dépôt: 1/2 m.m.	± après 2' Dépôt: 0	
III. Reptilia 1. Chelonia 1. <i>Emys europaea</i> ♀ S	Sang du 23. XII. 10	—	± après 2' Dépôt: 0	
	Albumine œuf 25. I. 11	—	+ presque immé- diate Dépôt: traces.	
2. Sauria 1. <i>Lacerta viridis</i>	Sang du 21. III. 10	—	± après 3' Dépôt: 0	
IV. Amphibia 1. Urodela 1. <i>Triton cristatus</i>	Sang du 13. XII. 10	—	—	
2. Anura 2. <i>Bufo vulgaris</i>	„ „ 5. I. 08	—	—	
V. Pisces 1. Teleostea 1. <i>Trutta fario</i>	Sang du 3. VI. 10	—	—	

Si nous jetons un coup d'œil sur ce tableau et si l'on compare mes résultats avec ceux de Nuttall et Graham-Smith, nous constatons:

1° Que ni A.S. ni A.O. ont donné un précipité quelconque avec le sang des mammifères expérimentés. Ces résultats coïncident avec ceux de Nuttall, qui n'a eu par-ci par-là que de très faibles et très douteux précipités.

2° Que soit A.S. soit A.O., ont donné un précipité avec le sang de tous les oiseaux expérimentés. Mais si nous

faisons exceptions pour les Gallinae, le précipité obtenu avec A.S. et surtout avec A.O. a été toujours très faible et plus lent à apparaître. Ces résultats concordent aussi avec ceux de Nuttall. Il est intéressant de noter que A.O. a donné un précipité plus fort dans le sang de la poule que dans celui du coq, chose déjà constatée par Uhlenhuth en 1902 ¹⁾).

3° Que tandis que A.S. n'a donné aucun précipité avec le sang d'*Emys europaea* ni avec celui de *Lacerta viridis*, A.O. a donné un faible précipité avec ces 2 sangs. Les résultats obtenus avec A.S., correspondent complètement à ceux de Nuttall et Graham-Smith. Quant à ceux obtenus avec A.O., correspondent à ceux obtenus par Nuttall et Graham-Smith avec d'autres espèces de Chéloniens mais pas à ceux qu'ils ont obtenu avec les Lacertilia dans la sous-classe des Sauriens. En effet ces deux observateurs, n'ont constaté aucun précipité ou un précipité douteux avec le sang de Lacertilia traité avec A.O. tandis qu'ils en ont observé avec le sang de quelques espèces de l'ordre des Ophidia. Il faut pourtant noter, que ni l'un ni l'autre de ces observateurs n'a expérimenté avec le sang de *L. viridis*, qui pourrait par conséquent se comporter d'un façon différente des autres Lacertilia, et ça d'une façon analogue à ce qu'ils ont observé pour quelques espèces dans l'ordre des Ophidia. Du reste le précipité que j'ai obtenu a été lent à apparaître (3').

4° Que tandis que A.S. a donné une forte réaction en présence d'albumine d'œuf de poule, il n'a donné aucun précipité en présence d'albumine d'œuf d'*E. europaea*. Au même résultat sont arrivés Nuttall et Graham-Smith avec l'albumine d'œuf d'autres chéloniens.

5° Que A.O. a donné un très fort précipité en présence d'albumine d'œuf de poule et un faible précipité en présence de celle de l'œuf d'*E. europaea*. Au même résultat sont arrivés Nuttall et Graham-Smith, avec l'albumine de l'œuf d'autres chéloniens.

1) Cité par Nuttall, p. 146.

6° Que ni A.S. ni A.O. ont produit un précipité quelconque dans le sang des Amphibia et des Pisces expérimentés, comme Nuttall et Graham-Smith ont aussi constaté.

L'ensemble de mes résultats donc, concorde complètement avec ceux obtenus dans des expériences analogues par Nuttall, Graham-Smith et Uhlenhuth. La technique de Carnwath donc, se prête fort bien pour ce genre de recherches, à condition de s'en tenir à la prescription d'Uhlenhuth¹⁾, c. à d. de ne considérer la réaction comme positive que lorsque l'anneau de précipité se forme immédiatement ou 1—2 minutes après. Cette méthode, très simple et permettant d'utiliser de très petites quantités de sang, est toute indiquée pour des recherches intéressant la zoologie, recherches dans lesquelles la réaction des précipitines doit occuper de plus en plus une place importante.

Zusammenfassung.

Die Anwendung der Präzipitinreaktion nach der Methode von Carnwath erlaubt, die Beziehungen zwischen Blut und Eiweiß der Vögel und Reptilien festzustellen, und die früheren Beobachtungen von Uhlenhuth, Nuttall und Graham-Smith zu bestätigen. Diese Methode ist für zoologische Untersuchungen sehr empfehlenswert, wegen der kleinen Mengen von Eiweiß, die sie erfordert.

1) Uhlenhuth et Weidanz, Travail cité, p. 54.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. Dr. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber Antikörperbildung und Anaphylaxie bei weißen Mäusen.

Von Dr. H. Ritz,
Assistent am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. März 1911.)

Die wechselnde Reaktionsfähigkeit verschiedener Organismen bei der Einführung artfremden Eiweißes, die besonders bei der Erzeugung präzipitierender Antisera sich von Anfang an dokumentierte, kommt wie bei anderen Arten der Eiweiß-Antieiweißreaktion auch ganz besonders bei der Anaphylaxie zum Ausdruck. Weiß man doch, daß selbst bei den hochempfindlichen Meerschweinchen die Empfindlichkeit gegen die wiederholte Einführung artfremden Eiweißes nicht nur von Rassenunterschieden (Vasconcellos)¹⁾ abhängig sein kann, sondern auch in gewissen Grenzen individuell variiert. Umso weniger kann es also befremden, wenn von weitgehenden Reaktionsdifferenzen bei verschiedenen Tierarten berichtet wird. Im besonderen schien die Maus nach den früheren Angaben der Autoren bei der Anaphylaxie refraktär zu sein. So berichteten Frey²⁾, Doerr und Russ³⁾, Trommsdorff⁴⁾, Friedberger und Hartoch⁵⁾, Galli-Valerio⁶⁾ über negative Anaphylaxieversuche bei der Maus. Erst Braun⁷⁾

1) Vasconcellos zit. nach Doerr, Anaphylaxie. Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 2, p. 866.

2) Frey, Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten, Bern 1908, Heft 1. Jena, Gustav Fischer.

3) R. Doerr und V. K. Russ, diese Zeitschrift, Bd. 3, Heft 2.

4) Trommsdorff, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 32, 1909, Heft 2, p. 560.

5) E. Friedberger und O. Hartoch, diese Zeitschrift, Bd. 3, 1909, Heft 6.

6) Galli-Valerio, diese Zeitschrift, Bd. 5, 1909, Heft 5.

7) H. Braun, Münchener med. Wochenschr., 1909, No. 37; diese Zeitschrift, Bd. 4, Heft 5.

gelang es auch bei dieser Tierart das Eintreten von Anaphylaxie nachzuweisen; jedoch zeigte sich hierbei, daß zum Auslösen der Anaphylaxie eine mehr oder weniger häufige Wiederholung der Antigeninjektion erforderlich war, und daß die Krankheitssymptome relativ geringgradig auftraten, der letale Ausgang nur bei einem ziemlich geringen Prozentsatz der Versuchstiere erfolgte¹⁾.

Eine Erklärung für diese Sonderstellung der Maus glaubte man zuerst, entsprechend den allgemeinen Anschauungen über das Wesen der Anaphylaxie, in einer Unfähigkeit dieser Tierart zur Antikörperbildung begründet zu sehen (Doerr und Russ, Friedberger und Hartoch). Diese Auffassung wurde scheinbar auch experimentell begründet, indem es nicht gelang, von Mäusen präzipitierende Antisera zu gewinnen (Doerr und Russ, Trommsdorff). Allerdings mußte es dabei auffällig erscheinen, daß es auch nicht gelang, bei Mäusen passive Anaphylaxie durch Zufuhr von anderen Tierarten gewonnener Antisera zu erzeugen (Doerr und Russ, Braun). Unberücksichtigt geblieben war aber bei diesem Versuch der Deutung die Frage nach dem Gehalt des Mäuseorganismus an Komplementen, denen ja nach den jetzt herrschenden Auffassungen über das Zustandekommen der Anaphylaxie eine so bedeutende Rolle zuzuschreiben ist. Es schien mir daher angezeigt, die Frage der Anaphylaxie bei weißen Mäusen noch einmal aufzunehmen und mit ihrer Beantwortung eine Analyse der Antikörperreaktionen bei der Maus zu verbinden²⁾.

I. Ueber Antikörperbildung bei weißen Mäusen.

A. Hämolyse.

Zunächst versuchte ich mich von der Fähigkeit der Mäuse. Hämolyse immunisatorisch zu bilden, zu überzeugen.

1) Verwiesen sei auch auf die Angaben von Yamanouchi (Compt. Rend. Soc. Biol., 1909, No. 16), der Krebsmäuse gegen die peritoneale Injektion des gleichen Tumors, mit dem sie behaftet waren, sehr empfindlich fand, doch konnten seine Angaben durch Apolant (diese Zeitschrift, Bd. 3, 1909, Heft 1) keine Bestätigung finden.

2) Ueber einen Teil der Ergebnisse ist von Sachs auf der 4. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie bereits berichtet worden (Centralbl. f. Bakteriologie, I. Abt., Referate, Bd. 47, Beiheft).

a) Eine Reihe von Mäusen erhielt je 0,5 ccm gewaschenes Rinderblut peritoneal und wurde am 12. Tage nach der Injektion entblutet.

b) Eine zweite Reihe von Mäusen erhielt zwei Injektionen von je 0,5 ccm gewaschenen Rinderblutes in 11-tägigem Intervall peritoneal und wurde am 8. Tage nach der zweiten Injektion entblutet.

Die gewonnenen Sera a und b wurden in üblicher Weise inaktiviert und in absteigenden Mengen unter Zusatz von je 0,25 ccm 5-proz. Rinderblut und je 0,025 ccm Meerschweinchenserums als Komplement geprüft. Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Mengen des Antiserums ccm	Hämolyse von 0,25 ccm 5-proz. Rinderblut durch 0,025 ccm Meerschweinchenserum + absteigenden Mengen Antiserums	
	a	b
0,25 $\frac{1}{20}$	komplett	komplett
0,15	"	"
0,5 $\frac{1}{100}$	wenig	"
0,25	Spürchen	"
0,15	0	stark
0,1	0	wenig
0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß es bereits durch einmalige Injektion gelingt, in ziemlich beträchtlichem Grade hämolytische Ambozeptoren von der Maus zu erhalten, und daß bei wiederholter Injektion ein immerhin recht erheblicher Antikörpergehalt erreicht wird ¹⁾).

Bei diesen Versuchen hatte ich das Mäuseserum zuerst in aktivem Zustande verwendet und konnte dabei beobachten, daß auch in den größten Dosen nicht die geringste Hämolyse eintrat, obwohl durch Zusatz von Meerschweinchenserum die Hämolyse sehr leicht zu erzielen war. Das Mäuseserum schien demnach kein Komplement für die in ihm enthaltenen Ambozeptoren zu besitzen. Da aber immerhin mit der Möglichkeit zu rechnen war, daß es sich im Immunserum um gewisse „autoantikomplementäre“ Wirkungen handeln konnte, habe ich eine Reihe von normalen Mäuseseren auf ihren Komplementgehalt geprüft und konnte weder bei der Verwendung der von der Maus gewonnenen Ambozeptoren noch bei den vom Ka-

1) Es sei bemerkt, daß normale Mäusesera auch in den größten Dosen jeglicher hämolytischen Wirkung entbehrten.

ninchen stammenden eine Aktivierung erzielen. Die Versuche wurden unter mannigfacher Variation der quantitativen Verhältnisse häufig wiederholt, jedoch gelang es niemals, durch aktives Mäuseserum als Komplement eine Aktivierung von Ambozeptoren zu bewirken. Es dürfte daher der Schluß gerechtfertigt erscheinen, daß das Mäuseserum hämolytische Komplemente für homologe und die vom Kaninchen gewonnenen Ambozeptoren nicht enthält.

Seitdem wir durch die Untersuchungen von Ferrata¹⁾ die komplexe Konstitution der Komplemente kennen gelernt haben, erschien es nicht angängig, sich mit der Feststellung derartiger Befunde zu begnügen. Ich suchte dementsprechend festzustellen, ob im Mäuseserum, wenn auch eine eigentliche Komplementfunktion nicht nachzuweisen ist, die Wirkung des einen oder anderen Bestandteils des Komplements aufgedeckt werden kann, die von Brand²⁾ als Mittelstück und Endstück bezeichnet wurden. Inzwischen sind von einer Reihe von Autoren [Liefmann und Cohn³⁾, Landsteiner⁴⁾, Guggenheimer⁵⁾, E. Fränkel⁶⁾, Braun⁷⁾] eine Reihe von Befunden mitgeteilt worden, die mir bei Anstellung meiner Versuche nicht bekannt waren und aus denen sich ergibt, daß solche Sera, welche an und für sich nicht oder nur wenig Komplement besitzen, die eine Fraktion des Komplements, und zwar das aus den Globulinen stammende und an sie gebundene Mittelstück enthalten können. Dieses Ergebnis hat sich auch bei der weiteren Analyse des Mäuseserums herausgestellt.

Zu den nun folgenden Versuchen wurde Hammelblut in 7—8-proz. Suspension verwandt, das mit ca. 10 Ambozeptoreinheiten eines vom Ka-

1) A. Ferrata, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) E. Brand, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.

3) H. Liefmann und M. Cohn, diese Zeitschrift, Bd. 6, 1910, Heft 1; ferner: 4. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie 1910. Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, Bd. 47, Referate, Beiheft.

4) Landsteiner, 4. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie 1910. Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, Bd. 47, Referate, Beiheft.

5) H. Guggenheimer, diese Zeitschrift, Bd. 8, 1910, Heft 3.

6) E. Fränkel, diese Zeitschrift, Bd. 8, 1911, Heft 5/6.

7) H. Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 65, 1911, Heft 1/2, p. 65.

ninchen gewonnenen spezifischen Immunambozeptors sensibilisiert wurde. Bei einem Gesamtvolumen von 1,1 ccm kamen je 0,5 ccm sensibilisierten Blutes zur Verwendung.

Um nachzuweisen, ob das Mäuseserum Mittelstück oder Endstück enthält, wurden die beiden Komponenten aus Meerschweinchenserum durch Dialyse nach der Methode von Ferrata gewonnen und nach vorheriger Prüfung ihrer Wirksamkeit in nicht oder nur spurweise lösenden Dosen mit Mäuseserum digeriert. Ein Versuchsbeispiel dieser Art sei in folgendem angeführt.

Absteigende Mengen aktiven Mäuseserums wurden mit je 0,5 ccm sensibilisierter Hammelblutaufschwemmung digeriert:

in Reihe a allein,
 „ „ b unter Zusatz von je 0,05 Endstück,
 „ „ c „ „ „ 0,025 Meerschweinchenserum - Mittelstück. Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Mengen des Mäuseserums ccm	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch absteigende Mengen Mäuseserum unter Zusatz von		
	a 0,1 NaCl	b ($\frac{1}{2}$ · 0,1 Endstück)	c $\frac{1}{4}$ · 0,1 Mittelstück
0,15	0	wenig	0
$\frac{1}{4}$ 0,5	0	„	0
0,25	0	„	0
0,15	0	mäßig	0
$\frac{1}{25}$ 0,5	0	„	Spürchen
0,25	0	stark	„
0,15	0	fast komplett	„
$\frac{1}{125}$ 0,5	0	„ „	„
0,25	0	„ „	„
0,15	0	stark „	„
0	0	0	„

Aus der Tabelle ergibt sich, daß es durch Meerschweinchenserumendstück im Verein mit Mäuseserum gelingt, eine sehr erhebliche Hämolyse zu erzielen, was bei Verwendung des Meerschweinchenmittelstücks nicht der Fall ist. Daraus ergibt sich die Berechtigung des Schlusses, daß das Mäuseserum diejenige Komponente der Komplementfunktion, die wir als Mittelstückwirkung bezeichnen, enthält. Auffällig ist nur in der Tabelle, daß in der Kolumne b

offenbar ein Ueberschuß des Mäuseserums eine Hemmung der Hämolyse bewirkt, was in Kolumne c insofern auch zum Ausdruck kommt, als die geringgradige hämolytische Wirkung, welche dem Meerschweinchenmittelstück noch anhaftet, durch Zusatz größerer Mengen Mäuseserum völlig unterdrückt wird. Diese scheinbar paradoxe Tatsache findet in der Annahme einer gleichzeitigen Gegenwart von antikomplementärer Funktion eine einfache Erklärung und es ist für den vorliegenden Fall nicht wesentlich, ob man dabei mit Brand und Hecker¹⁾ annimmt, daß es sich dabei um eine Modifikation des Mittelstücks handelt oder ob man mit Friedemann²⁾ eine besondere Quote für die antikomplementäre Wirkung verantwortlich macht.

In jedem Fall war zu erwarten, daß es nach dem Vorgehen von Brand und Hecker mit dem aus Meerschweinchen-serum isolierten Mittelstück auch hier gelingen würde, die entsprechende Funktion des Mäuseserums nach vorheriger Bindung an sensibilisiertes Blut markanter in Erscheinung treten zu lassen. Daß dem so ist, zeigt folgendes Versuchsbeispiel.

Absteigende Mengen Mäuseserum wurden mit je 0,5 ccm sensibilisierten Hammelbluts 1 Stunde bei 37° digeriert, die Röhrchen zentrifugiert und die Sedimente mit je 0,05 ccm Abguß vom dialysierten Meerschweinchen-serum versetzt, nachdem das frühere Volumen durch Zusatz entsprechender Mengen physiologischer Kochsalzlösung wiederhergestellt war. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle III.

Mengen des Mäuseserums ccm	Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch absteigende Mengen Mäuseserum nach vorheriger Bindung an das Blut und durch Zusatz von Meerschweinchen-serum-Endstück
0,15	fast komplett
$\frac{1}{6}$ 0,5	"komplett"
0,25	"
$\frac{1}{25}$ 0,5	"
$\frac{1}{125}$ 0,5	"
0,25	"stark"
0,15	stark
0	0

1) R. Hecker, Arbeiten aus dem Königl. Institut f. exper. Therapie zu Frankfurt a. M., 1907, Heft 3. Jena, Gustav Fischer.

2) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 67, Heft 2, 1910.

Die Tabelle, welche einen am selben Tage mit dem vorhergehenden und mit den gleichen Materialien ausgeführten Versuch darstellt, zeigt, daß es durch vorheriges Beladen mit dem Mäuseserum in der Tat gelingt, die durch einen Ueberschuß des Mäuseserums bedingte Hemmung auf ein Minimum zu reduzieren. Uebrigens war diese durch den Ueberschuß an Mäuseserum hervorgerufene Hemmung durchaus nicht immer in so eklatanter Weise nachzuweisen und gelangte in manchen Fällen beim gleichzeitigen Mischen aller Komponenten nur andeutungsweise zur Beobachtung.

Von weiteren Eigenschaften des im Mäuseserum enthaltenen Mittelstücks habe ich noch das Verhalten gegenüber thermischen Einflüssen und gegenüber der Dialyse geprüft. Durch ein halbstündiges Erhitzen auf 55° wurde das Serum inaktiviert, d. h. es gelang mit derartig erhitztem Serum nicht mehr im Verein mit Endstück Hämolyse zu erzielen, während ein Erhitzen auf 45°, wenn überhaupt, so eine geringgradige Abschwächung der Wirksamkeit verursachte. Die Ergebnisse bei der Dialyse waren insofern nicht ganz eindeutig, als eine mehr oder weniger starke Abschwächung der Mittelstückwirkung dabei unverkennbar war. Jedoch zeigte sich auch hierbei insofern Uebereinstimmung mit den über das Mittelstück bekannten Eigenschaften, als der weitaus größte Anteil der Wirkung an den Globulinanteil gebunden war. Nach alledem führen die mitgeteilten Versuche zu dem Schluß, daß das Mäuseserum zwar nicht befähigt ist, die herangezogenen hämolytischen Systeme zu aktivieren, aber in recht erheblichen Mengen die als Mittelstück bezeichnete Komponente enthält. Im Gegensatz dazu war das Rattenserum imstande, sensibilisierte Hammelblutkörperchen in relativ geringen Mengen aufzulösen, enthielt also wirksames Komplement und übte übrigens bereits an sich eine mäßige hämolytische Wirkung gegenüber Hammelblut aus.

Hinzufügen darf ich vielleicht noch, daß ich auch im Pferdeserum, dem bei den üblichen Ambozeptormengen eine aktivierende Wirkung für sensibilisiertes Hammelblut nicht zukommt, einen überraschend hohen Gehalt an wirksamem

Mittelstück gefunden habe. Auch dem Pferdeserum¹⁾ ist wie dem Mäuseserum eigentümlich, daß größere Dosen sehr oft eine Hemmung der Hämolyse bei Zusatz von Endstück bewirken. Es liegt immerhin nahe, an die Möglichkeit zu denken, daß die Organismen, welche ein Blutserum von den hier beschriebenen Eigenschaften besitzen, nicht nur die eine Komplementkomponente besitzen, daß vielmehr durch einen besonderen Mechanismus der im Serum befindlichen Stoffe die Komplementbindung larviert wird.

B. Präzipitine.

Was nun die Präzipitinbildung bei weißen Mäusen anlangt, so habe ich als Antigen Pferdeserum verwandt, das auch hauptsächlich zu den später mitzuteilenden Versuchen über Anaphylaxie diente. Bei geeigneter Vorbehandlung konnte ich hierbei das Entstehen von Präzipitinen im Blutserum nachweisen, wenn auch die Präzipitationsfähigkeit nicht eine erhebliche war.

Als Versuchsbeispiel berichte ich über folgende 4 Sera von Mäusen, bei denen die Versuchstiere 0,3 und 0,5 ccm Pferdeserum in dreitägigem Intervall injiziert erhielten, und zwar in den Versuchsreihen a und b intravenös, in den Reihen c und d intraperitoneal. Die Mäuse wurden 12 resp. 14 Tage nach der letzten Injektion entblutet, die Präzipitinreaktion wurde durch Ueberschichten des Antigens mit verdünnten Lösungen von Pferdeserum angestellt und das Ergebnis nach 20 Minuten, einer und zwei Stunden abgelesen. Das Resultat ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

Mengen des Pferdeserums Volumen 1 ccm	Präzipitation von absteigenden Mengen Pferdeserum bei Zusatz von 0,1 ccm Serum von mit Pferdeserum vor- behandelten Mäusen											
	a			b			c			d		
	nach			nach			nach			nach		
	20'	60'	120'	20'	60'	120'	20'	60'	120'	20'	60'	120'
0,1	+	++	++	+	+	+	0	0	+	?	+	+
0,05	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
0,01	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0
0,005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1) Cfr. hierzu auch die neueren Untersuchungen von E. Fränkel (l. c.).

Aus der Tabelle ergibt sich, daß ein Präzipitingehalt bei den mit Pferdeserum vorbehandelten Mäusen nachzuweisen war. Die Ringbildung war nur eine relativ geringgradige und nur bei verhältnismäßig hohen Serumkonzentrationen zu beobachten, trotzdem die Pferdeserum-mengen, welche zur Vorbehandlung der Mäuse dienten, als relativ große bezeichnet werden müssen. Wenn ich also auch nach meinen Erfahrungen angeben muß, daß die Bildung von Präzipitinen bei der Maus nachzuweisen ist, so nähern sich die von mir erhaltenen Ergebnisse insofern den von Trommsdorff, sowie Doerr und Russ berichteten negativen Resultaten, als der Präzipitingehalt der Mäusesera nur ein recht geringgradiger war¹⁾. Erwähnen möchte ich noch, daß ich natürlich das Serum von normalen Mäusen zur Kontrolle herangezogen hatte und damit bei Parallelversuchen eine Reaktion im Verein mit Pferdeserum nicht auftreten sah. Nach längerem Stehen der aufgeschüttelten Gemische von Pferdeserum und dem von Mäusen gewonnenen Antiserum war die Niederschlagsbildung besonders nach dem Zentrifugieren deutlich wahrzunehmen.

C. Komplementbindende Antikörper.

Ebenso gelang es auch mit dem Serum der mit Pferdeserum vorbehandelten Mäuse komplementbindende Antikörper nachzuweisen, wofür ich folgendes Versuchsbeispiel als Beleg anführe.

Absteigende Mengen:

A. Normales Mäuseserum,

B. Serum von mit Pferdeserum intravenös vorbehandelten Mäusen²⁾,

C. Serum von mit Pferdeserum intraperitoneal vorbehandelten Mäusen²⁾ wurden im Volumen von 0,5 ccm in verschiedenen Reihen mit physiologischer Kochsalzlösung einerseits, mit Verdünnungen von normalem

1) Vielleicht gelingt mit anderen Antigenen die Präzipitinbildung bei Mäusen in stärkerem Maße. Auch in Bezug auf die Agglutininbildung scheinen bei Mäusen nach Friedberger und Nasseti (diese Zeitschr., Bd. 2, 1909) Variationen vorzukommen; so eignete sich nach ihrer Angabe ein Wasservibrio gut für die Erzeugung von Agglutininen, während durch Typhus bei Mäusen nur minimale Agglutinintiter gebildet wurden.

2) Die Sera sind identisch mit den Seren, deren Präzipitingehalt in Tabelle IV Reihe a und c angegeben ist.

Pferdeserum im Volumen von 0,1 ccm andererseits 1 Stunde lang mit je 0,1 ccm 3-fach verdünnten Meerschweinchenserums bei 37° digeriert, dann erfolgte Zusatz von je 0,1 ccm 400-fach verdünntem Serum eines mit Hammelblut vorbehandelten Kaninchens (ca. 2 $\frac{1}{2}$ -fach lösende Dosis) und 0,5 ccm Hammelblutaufschwemmung.

Das Resultat nach weiterem 2-stündigen Verweilen bei 37° zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle V¹⁾.

Mengen des Mäuse- serums ccm	Hämolyse von Hammelblut nach Digerieren von Meerschweinchenserum, Mäuserum und Pferdeserum (resp. Kochsalzlösung) nach Zusatz von hämolytischem Ambozeptor														
	Serum A					Serum B-					Serum C				
	NaCl 0,1	Pferdeserum				NaCl 0,1	Pferdeserum				NaCl 0,1	Pferdeserum			
		0,033	0,01	0,0033	0,001		0,033	0,01	0,0033	0,001		0,033	0,01	0,0033	0,001
0,1	w	w	w	w	m	w	0	0	0	0	w	0	0	0	0
0,05	fk	m	m	fk	fk	k	Spch	0	0	0	k	Spch	Spch	Spch	Sp
0,03	k	m	fk	k	k	k	w	Sp	Spch	Sp	k	w	m	m	fk
0,02	k	k	k	k	k	k	st	m	st	fk	k	st	fk	fk	k
0,01	k	k	k	k	k	k	k	st	k	k	k	fk	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die hemmende Wirkung der Antisera in der Tat durch Zusatz von Pferdeserum verstärkt wird. Wenn auch die Antiserummengen, welche zur vollständigen oder fast vollständigen Komplementbindung erforderlich sind, relativ hohe sind, so glaube ich doch die Versuche, die auch durch Untersuchung einiger anderer Antisera bestätigt wurden, im Sinne der Wirkung immunisatorisch entstandener komplementbindender Antikörper deuten zu sollen. In diesem Sinne kann vielleicht als Stütze der Umstand herangezogen werden, daß bei dem Antiserum B ein Ueberschuß von Antigen eine Reduktion der komplementbindenden Wirkung herbeiführt, wie wir dies bei den spezifischen Komplementbindungen zu sehen gewohnt sind. Verwiesen sei auch darauf, daß das Serum der durch intravenöse Injektion vorbehandelten Mäuse ebenso wie bei der Präzipitation, so auch bei der Komplementbindung das

1) Zeichenerklärung. Grad der Hämolyse: k = komplett, fk = fast komplett, st = stark, m = mäßig, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

Serum der intraperitoneal vorbehandelten Tiere zu übertreffen scheint.

II. Ueber Anaphylaxie bei weißen Mäusen.

Die vorstehend mitgeteilten Untersuchungen sollten insofern als Vorversuche für die Untersuchungen auf Anaphylaxie dienen, als ich hoffte, durch sie einen Aufschluß darüber zu erlangen, warum nach den früheren Angaben der Autoren es bei Mäusen nicht oder nur nach vielfacher Vorbehandlung gelang, Anaphylaxie zu erzeugen. Nun hatte sich ergeben, daß der Mäuseorganismus doch befähigt ist, Antieiweißstoffe, wenn auch in geringen, so doch in deutlich nachweisbaren Mengen zu produzieren, und es mußte daher scheinen, daß die von anderer Seite angenommene Erklärung, nach welcher die Anaphylaxie bei weißen Mäusen wegen des Mangels an derartigen Antikörpern nicht zustande kommt, eine hinreichende Deutung nicht darstellt. Gilt doch auch das Meerschweinchen, das sich zur Präzipitinbildung weniger zu eignen scheint als das Kaninchen¹⁾, als das beste Versuchsobjekt für Anaphylaxie, und doch können bei der aktiven Anaphylaxie des Meerschweinchens nach Vorbehandlung mit sehr geringen Mengen Antigen die schwersten Erscheinungen ausgelöst werden, obwohl Präzipitine nicht oder nur mit gewissen Kunstgriffen nachzuweisen sind (cf. Doerr und Moldovan)²⁾. Nach den von mir mitgeteilten Untersuchungen mußte es aber verlockend erscheinen, einem anderen Problem nachzugehen und die Frage zu prüfen, ob nicht die geringe Eignung der Mäuse für die Anaphylaxie darin begründet ist, daß das Mäuseserum die bei Meerschweinchen in so ausgesprochenem Maße hervortretenden Komplementfunktionen in nachweisbarer Form nicht besitzt. Nach den heute herrschenden Anschauungen über Anaphylaxie, zu denen die Forschung nach den bereits in diesem Sinne

1) Nach den Untersuchungen von Friedberger und Castelli (diese Zeitschr., Bd. 6, 1910, p. 179), sowie von Burckhardt (diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, p. 87) gelingt es durch mehrmalige Vorbehandlung auch bei Meerschweinchen regelmäßig Präzipitine zu erhalten, die bei intravenöser Injektion gelegentlich auch einen hochwertigen Titer aufweisen.

2) Diese Zeitschr., Bd. 5, 1910, p. 161.

sprechenden Untersuchungen Friedemanns¹⁾ insbesondere auf Grund der von Friedberger²⁾ so erfolgreich gegebenen umfassenden experimentellen Basis gelangt ist, muß ja dem Komplement ein ausschlaggebender Faktor für das Zustandekommen der Vergiftung zugesprochen werden, und so konnte man daran denken, gerade bei der Maus durch Zuführung von frischem Meerschweinchenkomplement bei der Reinjektion, die sonst bei der Reaktion schwer auslösbaren Erscheinungen zu erzielen. Die sich ergebende Versuchsanordnung würde also in gewisser Hinsicht in Parallele zu setzen sein mit den interessanten Untersuchungen von Uhlenhuth und Haendel³⁾, Friedberger und Hartoch⁴⁾, denen es nicht gelang, bei Säugern durch Antisera von Vögeln und umgekehrt passive Anaphylaxie zu erzeugen, im Gegensatz zu dem Ergebnis bei Verwendung homologen Antiserums, eine Tatsache, die in Uebereinstimmung steht mit den älteren Angaben Wechsbergs⁵⁾, daß bei bakteriolytischen Ambozeptoren Kaninchenantikörper nicht vom Vogelkomplement aktiviert werden.

Bevor ich auf die Schilderung meiner Untersuchungen eingehe, möchte ich kurz die von mir befolgte Methodik darlegen. Die Vorbehandlung der Mäuse erfolgte auf subkutanem, intraperitonealem oder intravenösem Wege, die Reinjektion geschah ausnahmslos intravenös, was ja nach den Erfahrungen bei Meerschweinchen als durchaus angezeigt erscheinen mußte. Auch bietet die Technik der intravenösen Injektion bei Mäusen nicht die geringste Schwierigkeit, wie das schon von Trommsdorff⁶⁾ hervorgehoben wurde.

Auch das von mir seit langer Zeit im hiesigen Institut geübte Verfahren unterscheidet sich nicht wesentlich von dem von Trommsdorff angegebenen. Um eine maximale Dilatation der Schwanzgefäße zu erzielen, wird der Schwanz kurz vor der Injektion in Wasser von ca. 50° getaucht, es gelingt dann so gut wie regelmäßig, durch flachen Einstich mit einer

1) U. Friedemann, diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 5, p. 591.

2) Vgl. die Mitteilungen von Friedberger und seinen Mitarbeitern in dieser Zeitschrift.

3) Uhlenhuth und Haendel, diese Zeitschr., Bd. 3, 1909, Heft 3.

4) E. Friedberger und O. Hartoch, l. c.

5) Wechsberg, F., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk., Bd. 38, 1901.

6) Trommsdorff, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 32, 1909, Heft 2, p. 568.

feinen, spitzen und nicht zu nachgiebigen Kanüle in die Vene zu treffen. Die Mengen injizierbarer Flüssigkeit sind für Mäuse ganz enorme. Es gelingt stets 2,5 ccm Kochsalzlösung, gelegentlich auch 3 ccm zu injizieren. Zwar erkranken die Tiere bei so maximalen Dosen gewöhnlich ganz leicht, doch erholen sie sich in der Regel sehr schnell.

Ausgehend von den obigen Betrachtungen habe ich zunächst versucht, mit Meerschweinchenserum Anaphylaxie zu erzeugen, denn bei diesem Vorgehen war ja die beabsichtigte Komplementzufuhr am leichtesten zu erreichen, da das als Antigen reinjizierte Serum gleichzeitig das erforderliche Komplement enthielt.

14 Mäuse werden durch intraperitoneale Injektion von je 0,5 ccm Meerschweinchenserum vorbehandelt, die Reinjektion erfolgt 14 Tage später mit verschiedenen Mengen Meerschweinchenserum im Volumen von 0,5 ccm intravenös. Mit den gleichen Mengen werden je zwei Tiere (a und b) der Serie nachinjiziert, das Ergebnis zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI¹⁾.

Mengen des reinjizierten Meerschweinchenserums ccm	Maus	
	a	b
0,5	0	0
0,4	†	krank
0,3	†	leicht krank
0,2	krank	" † "
0,1	†	krank
0,05	krank	"
0,025	schwer krank	"

Es wurde selbstverständlich eine Reihe von Kontrollversuchen mit intravenöser Injektion bei normalen Mäusen ausgeführt, es zeigten sich jedoch hierbei keine Krankheitserscheinungen.

Allem Anschein nach ist es also gelungen, nach einer einmaligen Vorbehandlung von Mäusen mit Meerschweinchenserum durch eine Reinjektion den akuten Tod oder mehr oder weniger schwere Krankheitserscheinungen zu bewirken. Die Versuchsserie weist insofern Unregelmäßigkeiten auf, als bei den größten der zur Injektion verwandten Dosen krankhafte Erscheinungen ausblieben, was ja aber im Sinne der Auffassung der Anaphylaxie als Eiweiß-Antieiweiß-

1) In dieser und den folgenden Tabellen bedeuten: † tot, 0 keine wahrnehmbaren Erscheinungen.

reaktion, zumal bei geringem Antikörpergehalt, ohne weiteres verständlich ist und wohl auch bei Meerschweinchenversuchen gelegentlich beobachtet wird. Außerdem fallen aber noch Unregelmäßigkeiten auf, die wohl durch individuelle Schwankungen der Empfindlichkeit, sowie durch individuelle Variation des Vorrats an anaphylaktischem Reaktionskörper eine hinreichende Erklärung finden.

Nimmt man nun an, daß bei der hier demonstrierten Anaphylaxie der Mäuse nach einmaliger Injektion in der Tat der Komplementgehalt des zur Reinjektion dienenden Serums eine ausschlaggebende Rolle spielt, so war es naheliegend, zu versuchen, ob man bei Verwendung einer anderen Serumart zur Reinjektion durch Zusatz des komplementhaltigen Meerschweinchenserums die gleichen Erscheinungen auslösen kann, während sie bei alleiniger Injektion des Antigens fehlen. Für die weiteren Versuche wählte ich daher als Antigen Pferdeserum.

Ich verfüge nun über einige Protokolle, die in dem diskutierten Sinne zu sprechen scheinen. Obwohl, wie ich gleich von vornherein erwähnen möchte, sich späterhin die hier gesuchte Gesetzmäßigkeit nicht feststellen ließ, sich vielmehr ergab, daß auch bei alleiniger Injektion von Pferdeserum dieselben Symptome ausgelöst werden können, so möchte ich doch ein Versuchsbeispiel im folgenden anführen.

Eine Serie von Mäusen wurde mit je 0,5 ccm Pferdeserum intraperitoneal vorbehandelt und nach 14 Tagen intravenös mit Gemischen von 0,05 ccm Pferdeserum und verschiedenen Mengen Meerschweinchenserum reinjiziert. Das Ergebnis zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Mengen des reinjizierten		Maus	
Meerschweinchenserums	Pferdeserums	a	b
ccm	ccm		
0,4	0,05	†	sehr krank
0,3	0,05	krank	krank
0,2	0,05	†	sehr krank
0,1	0,05	†	" "
0,05	0,05	†	†
0,025	0,05	leicht krank	leicht krank
0	0,05	0	0

Wenn ich zu der Tabelle noch hinzufüge, daß normale Mäuse nach der Injektion entsprechender Gemische von Pferde-

serum und Meerschweinchenserum keine Erscheinungen aufwiesen, so scheint in der Tat aus diesem Versuch hervorzugehen, daß es durch Zusatz von Meerschweinchenserum gelingt, mit dem an und für sich atoxischen Anaphylaktogen des Pferdeserums den anaphylaktischen Shock auszulösen. Ich habe das Versuchsbeispiel angeführt, weil es in eklatanter Weise für eine Bedeutung der Komplementzufuhr bei der Mäuseanaphylaxie zu sprechen schien, jedoch hat sich späterhin herausgestellt, daß es in den meisten Fällen gelingt, auch bei alleiniger Reinjektion von Pferdeserum den Tod der Versuchstiere oder schwere Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Außerdem gelang es bei der aktiven Anaphylaxie gegenüber Meerschweinchenserum, auch mit inaktiviertem Serum die Symptome auszulösen, wenn auch hierzu in der Regel größere Dosen erforderlich waren. Immerhin hat sich auch in späteren Versuchen oftmals eine begünstigende Wirkung des Zusatzes von aktivem Meerschweinchenserum bei der Reinjektion gezeigt, ich konnte aber eine Gesetzmäßigkeit in diesem Verhalten so wenig deutlich feststellen, daß ich nicht in der Lage bin, eine bestimmte Schlußfolgerung aus den Versuchen zu ziehen. Auch bei denjenigen Versuchen, die mit Pferdeserum ausgeführt werden, spielt der Komplementgehalt des Pferdeserums keine ausschlaggebende Rolle, da es ziemlich gleichgültig war, ob aktives oder inaktiviertes Pferdeserum verwendet wurde. Zur Demonstration der Pferdeserumanaphylaxie lasse ich folgendes Versuchsbeispiel folgen.

10 Mäuse erhalten am 30. X. 09 0,5 ccm Pferdeserum intraperitoneal und werden am 12. XI. 09 mit verschiedenen Mengen Pferdeserum im Volumen von 0,5 ccm intravenös reinjiziert. Das Ergebnis zeigt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Mengen des reinjizierten Pferdeserums ccm	Maus	
	a	b
0,4	†	schwer krank krank
0,3	†	
0,1	†	"
0,05	†	
0,025	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß es bereits nach einmaliger Injektion in mindestens 50 Proz. der

Fälle gelungen ist, den anaphylaktischen Tod der Versuchstiere herbeizuführen. Auch hier scheint sich ebenso wie bei der Meerschweinchenserumanaphylaxie zu zeigen, daß ein Ueberschuß des reinjizierten Antigens dem letalen Ausgang hinderlich ist. Wenigstens dürfte in diesem Sinne die Tatsache sprechen, daß mit 0,05 ccm Pferdeserum beide Tiere zugrunde gingen, während sich in den mit höheren Dosen injizierten je ein Tier wieder erholte. Derartigen quantitativen Verhältnissen bin ich in einer großen Reihe von Fällen begegnet und sie scheinen dafür zu sprechen, daß einerseits ein optimales Verhältnis zwischen Antikörpergehalt und Antigen für die Mäuseanaphylaxie erforderlich ist, andererseits aber der Antikörpergehalt einzelner Individuen bei identischer Vorbehandlung weitgehende Differenzen aufweisen kann.

Zur Erzeugung der Anaphylaxie bei weißen Mäusen sind nach meinen Erfahrungen durchaus nicht so große Dosen erforderlich, wie sie in den angeführten Versuchen benutzt wurden. 0,01 ccm Meerschweinchenserum, resp. 0,02 ccm Pferdeserum genügten in der Regel bereits, in einem nicht unerheblichen Prozentsatz der Fälle, tödlichen Ausgang bei der Reinjektion zu bewirken. Jedoch trat die individuelle Variation bei Vorbehandlung mit geringen Dosen noch schärfer hervor. Weit stürmischer und regelmäßiger waren hingegen die Erscheinungen, wenn die Vorbehandlung mit zweimaliger Injektion großer Dosen erfolgte.

Als Versuchsbeispiele dieser Art teile ich die folgenden Tabellen mit.

Tabelle IX.

10 Mäuse erhalten am 19. IX. 10 je 0,3 ccm, am 22. IX. 10 je 0,5 ccm Pferdeserum intraperitoneal. Nachprüfung am 4. X. 10 intravenös mit absteigenden Mengen Pferdeserum im Volumen von 0,5 ccm mit folgendem Resultat.

Mengen des reinjizierten Pferdeserums ccm	Maus	
	a	b
0,3	† in 20'	† in 25'
0,2	† „ 20'	† „ 20'
0,1	†	†
0,05	†	sehr krank
0,025	sehr krank	schnell erholt

Tabelle X.

10 Mäuse erhalten am 25. II. 10 und 28. II. 10 je 0,3 ccm Pferdeserum intravenös und werden am 9. III. 10 mit verschiedenen Mengen Pferdeserum im Volumen von 0,5 ccm intravenös reinjiziert.

Mengen des reinjizierten Pferdeserums ccm	Maus	
	a	b
0,3	† nach 10'	† nach 10'
0,2	†	krank
0,1	†	†
0,05	†	†
0,025	†	sehr krank

Tabelle XI.

Eine Serie von Mäusen (I) wird am 27. VII. 10 mit 0,3 ccm, am 30. VII. 10 mit 0,5 ccm Pferdeserum intravenös, eine andere Serie (II) an denselben Tagen mit den gleichen Dosen intraperitoneal vorbehandelt. Am 13. VIII. erfolgt die Nachprüfung durch Reinjektion von absteigenden Mengen Pferdeserum. Zu erwähnen ist noch, daß diese Mäuse zu den Serien gehörten, deren Sera auf Präzipitine und komplementbindende Substanzen in den mitgeteilten Tabellen (IV, a und c und V) untersucht sind¹⁾.

Mengen des reinji- zierten Pferdeserums ccm	Maus			
	I		II	
	a	b	a	b
0,3	† nach 30'	krank	† nach 5'	sehr krank
0,2	† „ 12'	† nach 12'	† „ 30'	† nach 30'
0,1	sehr krank	sehr krank	† „ 30'	† „ 30'
0,05	†	„ krank	† „ 30'	sehr krank
0,025	krank	„ krank	† nach 1 Std.	„ „

Die mitgeteilten Versuchsbeispiele zeigen also, daß bei zweimaliger Vorbehandlung der tödliche Ausgang weit häufiger eintritt als bei einmaliger Injektion. Bemerkenswert war, wie schon gesagt, bei den

1) Aus der Tabelle scheint hervorzugehen, daß die intraperitoneal vorbehandelten Tiere besser reagieren als die intravenös vorbehandelten im Gegensatz zu den Resultaten bei Anstellung der Präzipitation und Komplementbindung (s. Tabellen IV und V). Meine vergleichenden Versuche sind jedoch nicht zahlreich genug, um irgendwelche Schlüsse aus diesem Verhalten ziehen zu können. Indes wäre die Annahme vielleicht nicht ungerechtfertigt, daß bei intravenöser Vorbehandlung der optimale Zeitpunkt bei der Prüfung nach 14 Tagen bereits überschritten ist.

nur einmal vorbehandelten Tieren die Abhängigkeit der Reaktionsstärke von der reinjizierten Antigendosis. Nach zahlreichen Erfahrungen glaube ich schließen zu dürfen, daß gerade bei Mäusen die zur Reinjektion optimal geeigneten Dosen eng begrenzt sind, und daß bereits bei einer geringen Ueberschreitung nach oben oder nach unten die maximalen Symptome nicht mehr eintreten. Ich glaube daher den Umstand, daß es nicht konstant gelingt, Mäuse durch Reinjektion zu töten, nicht auf individuelle Differenzen in der Fähigkeit dieser Tierart anaphylaktisch zu reagieren, beziehen zu dürfen, sondern vielmehr darauf zurückführen zu sollen, daß die optimale Reinjektionsdosis individuell je nach dem Grade der durch die erste Injektion bewirkten veränderten Reaktionsfähigkeit variiert. Aus einem negativen Versuchsausfall wäre daher zunächst nicht der Schluß auf das Fehlen der Anaphylaxie, sondern nur auf eine ungeeignete Prüfungsdosis gerechtfertigt. Immerhin kann man sagen, daß bei geeigneter Vorbehandlung auch bei einer größeren Breite der Injektionsdosen sehr schwere Krankheitssymptome in annähernd 100 Proz. erzielt wurden.

Was nun diese Symptome anlangt, so ist die Aehnlichkeit mit denjenigen bei Meerschweinchen unverkennbar. Ein Unterschied ist nur darin gegeben, daß sie in der Regel langsamer auftreten und einen im allgemeinen weniger stürmischen Verlauf nehmen. Ungefähr 5 Minuten nach der Injektion treten Reizerscheinungen auf, die Tiere kratzen sich lebhaft, dann beginnt die Atmung angestrengter zu werden und nimmt einen mehr kostalen Charakter an. Die Tiere sitzen mit angestemmtten Vorderbeinen da, kriechen in ihren Käfigen mit spastisch-paretischem Gang einher. Nach längerer oder kürzerer Zeit tritt dann eine Lähmungsperiode auf, die gewöhnlich unter heftigen Krämpfen zum Tode führt. Je nach der Schwere der Erkrankung erfolgt der Tod in kürzerer oder längerer Zeit, im Durchschnitt in ca. 20—30 Minuten, kann jedoch besonders, wenn die sensibilisierende oder die prüfende Dosis gering ist, erst in einer bis mehreren Stunden eintreten. In allen Fällen aber erkranken die Tiere mit leichteren oder schwereren Symptomen, die einige Stunden andauern. Das Krankheitsbild erinnert oft an die chronisch verlaufende Ana-

phylaxie der Meerschweinchen, welche bei Injektion subletaler Dosen häufig beobachtet wird.

Die Sektion der bei der Nachprüfung gestorbenen Mäuse zeigte ziemlich übereinstimmend eine starke Injektion der Bauch- und Darmgefäße. Die Lungen, deren pathologisch-anatomischer Befund nach den Arbeiten von Auer und Lewis¹⁾, sowie Biedl und Kraus²⁾ als Hauptkriterium für die Diagnose des anaphylaktischen Todes gefordert wird, sind im Vergleich zu denen normaler Tiere etwas blasser und kollabieren nicht, ihre Konsistenz ist deutlich erhöht. Es bestehen also ganz entschieden die Zeichen der Lungenblähung, die entsprechend der kleineren Beschaffenheit viel weniger eklatant in Erscheinung tritt als bei anaphylaktischen Meerschweinchen. Der Grad der Lungenblähung scheint auch entsprechend dem langsameren Verlauf der Symptome bei Mäusen weniger stark zu sein als bei den akut gestorbenen Meerschweinchen, und es liegt wohl auch die Vermutung nahe, daß die Stärke der Symptome und der stürmische Verlauf einerseits, der Grad der Lungenblähung andererseits sich in gewissem Maße entsprechen.

Nach den mitgeteilten Erfahrungen unterliegt es wohl keinem Zweifel, daß es mit der von uns geübten Technik und Methodik relativ leicht gelingt, Mäuse gegen artfremdes Serum zu sensibilisieren und die früheren negativen Ergebnisse der Autoren dürfen wohl darin begründet sein, daß entweder die geeignete Reinjektionsdosis nicht getroffen wurde oder die Reinjektion nicht auf intravenösem Wege erfolgte. In dem Sinne, daß es sich hier um echte anaphylaktische Erscheinungen handelt, spricht auch die Tatsache, daß es in zahlreichen Fällen gelungen ist, bei solchen Tieren, bei denen die Reinjektion keinen tödlichen Ausgang bewirkte, Antianaphylaxie nachzuweisen. Hierfür sei folgendes Versuchsbeispiel mitgeteilt.

Eine Reihe von Mäusen wird am 6. XI. 09 mit je 0,2 Pferdeserum peritoneal vorbehandelt. Die Nachinjektion erfolgt am 22. XI. 09 intravenös, soweit nicht Gegenteiliges in der Tabelle ausdrücklich vermerkt ist, mit verschiedenen Mengen Pferdeserums resp. Gemischen. Die überlebenden

1) J. Auer und P. A. Lewis, Journ. of the American medic. Ass., Vol. 53, 1909, No. 6.

2) A. Biedl und R. Kraus, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 11.

Mäuse werden einen Tag darauf, am 23. XI., noch einmal intravenös mit einem Gemisch von 0,1 Pferdeserum + 0,3 Meerschweinchenserum nachgespritzt. Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle XII¹⁾.

Maus No.	I. Injektion (22. XI.)	Befund	II. Injektion (23. XI.)	Befund
567	0,1 ccm Pfs.	leicht krank	1,0 ccm Pfs. + 0,3 ccm Ms. dgl.	0
570	0,1 " "	" "	" "	0
571	0,1 " "	" "	" "	0
572	0,1 " " 0,1 ccm Ms.	schwer	" "	0
573	0,1 " " 0,1 " "	" "	" "	0
576	0,5 " " perit.	0	" "	0
577	0,5 " " "	0	" "	0
578	0,5 " " " 0,1 ccm Ms. iv.	leicht krank	" "	0
579	0,5 " " " 0,1 " " "	" "	" "	0
580	0,5 " " " 0,3 " " "	schwer	" "	0
574	0,1 " " + 0,3 ccm Ms.	†	—	—
575	0,1 " " + 0,3 " "	†	—	—
582	0,3 " Ms.	0	" "	†
583	0,3 " "	0	" "	†

Aus der Tabelle ergibt sich deutlich, daß alle Tiere, welche bei der ersten Injektion nicht mit dem Tode reagiert haben, sich am nächsten Tage gegenüber einem sich fast stets als tödlich erwiesenen Reinjektionsgemisch resistent, also antianaphylaktisch erweisen. Die in der Tabelle angeführten Versuchsbeispiele sind einer Serie entnommen, bei der die die Anaphylaxie begünstigende Wirkung eines Zusatzes von Meerschweinchenserum markant hervortrat und uns zu der Auffassung veranlaßte, die wir späterhin nicht mehr vollständig aufrecht erhalten konnten. Es darf vielleicht noch hierbei hinzugefügt werden, daß bei allen intraperitoneal mit Pferdeserum injizierten Tieren in der Regel nur geringe oder keine Erscheinungen beobachtet wurden, und daß es dabei in einer allerdings nur geringen Anzahl von Fällen gelang, durch eine gleichzeitige intravenöse Injektion von Meerschweinchenserum schwere Symptome oder auch den Tod der Tiere zu bewirken. Verwiesen sei auch darauf, daß die No. 576 und

1) In der Tabelle bedeuten: Pfs. = Pferdeserum, Ms. = Meerschweinchenserum, perit. = peritoneal, iv. = intravenös, 0 = keine Erscheinungen, † = tot.

577 der Tabelle zeigen, daß auch nach der peritonealen Injektion von Pferdeserum, die keine nachweisbaren Erscheinungen zur Folge hatte, der antianaphylaktische Zustand eintritt.

Ueber die Dauer des anaphylaktischen Zustandes bei der Maus wurden keine systematischen Untersuchungen angestellt; bei gelegentlicher Prüfung fand ich, daß die Anaphylaxie 6 Wochen nach der Vorbehandlung noch nachweisbar war, jedoch in bedeutend verminderter Stärke. Im Allgemeinen lag der günstigste Zeitpunkt für die Prüfung ca. 14 Tage nach der letzten Vorbehandlung.

Was die passive Anaphylaxie anlangt, so verfüge ich nicht über größere Versuchsreihen. Bisher ist mir trotz mehrfach variierten Versuche die homologe Uebertragung der Anaphylaxie von Maus zu Maus nicht gelungen. Bei der passiven Uebertragung durch präzipitierende Kaninchensera auf Mäuse hatte ich nur gelegentlich einen Erfolg, jedoch waren die erzeugten Krankheitserscheinungen nur geringgradig. Die Uebertragung der Anaphylaxie auf Meerschweinchen durch das Serum vorbehandelter Mäuse ist mir nicht gelungen. Wenn mithin meine bisherigen nicht sehr zahlreichen Erfahrungen über passive Anaphylaxie bei Mäusen mit denjenigen von Doerr und Russ sowie Braun übereinstimmen, so mag für das negative Ergebnis vielleicht die Abhängigkeit von optimalen Mengenverhältnissen verantwortlich sein.

Wenn wir nun die erwiesene Tatsache, daß Mäuse relativ leicht eine aktive Anaphylaxie erwerben, im Zusammenhang mit dem Fehlen nachweisbarer Komplementmengen im Mäuseserum betrachten, so ergibt sich in Hinsicht auf die herrschende, den Komplementen eine so gewichtige Rolle zuerteilende Auffassung der Anaphylaxieerscheinungen eine gewisse Schwierigkeit. Allerdings wäre dieselbe ohne weiteres überbrückt, wenn sich die Notwendigkeit der Komplementzufuhr erwiesen hätte, wie es zuerst den Anschein hatte, aber ich kann dies, wie schon ausgeführt, keinesfalls als Regel bezeichnen und muß nach mannigfacher Erfahrung annehmen, daß die Mäuse auch dann anaphylaktisch reagieren können, wenn eine gleichzeitige Injektion von Komplement nicht erfolgt. Trotzdem bin ich weit entfernt, aus den mitgeteilten Erfahrungen Einwände

gegen die Bedeutung des Komplements für die Anaphylaxie abzuleiten, vielmehr dürfte der Widerspruch nur ein scheinbarer sein. Zunächst könnte die Komplementwirkung im Reagenzglas durch gewisse antagonistische Einflüsse larviert sein, im Tierkörper aber doch unter gewissen Bedingungen zur Aktion gelangen. Dann aber verbietet es schon die Pluralität der Komplemente, aus dem nicht gelungenen Nachweis der Komplementwirkung im Reagenzglas gegenüber hämolysierenden Systemen irgend einen Schluß auf das Fehlen von Komplement für andersartige Antigen-Antikörperkomplexe zu ziehen. Außerdem ist aber gezeigt worden, daß das Mäuseserum die eine Komponente des Komplements, das Mittelstück, in nicht unerheblicher Menge enthält. Man könnte demnach daran denken, daß das Mittelstück zur Bildung des Anaphylatoxins genügt, eine Annahme, die sogar an Wahrscheinlichkeit gewinnen würde, wenn man der von Michaelis und Skwirsky¹⁾ inaugurierten Betrachtungsweise folgt, nach welcher bei den Antigen-Antikörperreaktionen im allgemeinen nur das Mittelstück verbraucht wird. Andererseits wird man auch die Möglichkeit zu berücksichtigen haben, daß aus dem Zusammenwirken des inaktiven Mäuseserums mit anderen an und für sich unwirksamen Seris, wie sie bei der Prüfung auf Anaphylaxie injiziert werden, unter geeigneten Bedingungen Komplementwirkungen resultieren könnten, wie wir sie derart durch Bordet und Gay²⁾ kennen gelernt haben. Schließlich ist vielleicht die Annahme nicht unbedingt erforderlich, daß dasjenige Agens des frischen Serums, welches zur Herstellung des Anaphylatoxins dient und demnach die Anaphylaxie auslöst, identisch ist mit den thermolabilen Substanzen, die wir auf Grund des Reagenzglasversuches als Komplemente zu bezeichnen gewohnt sind, und in diesem Sinne würde überhaupt das Fehlen nachweisbarer Komplementwirkung sensu strictiori in keiner Weise zu dem Schluß berechtigen, daß das für die Anaphylaxie erforderliche normale Prinzip im Blut fehlt. Man müßte dabei natürlich annehmen, daß das für die Anaphylaxie erforderliche Prinzip in seinem Verhalten einen weitgehenden

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 4.

2) J. Bordet und F. P. Gay, Annales de l'Institut Pasteur, T. 20, 1906.

Parallelismus mit den Komplementfunktionen besitzt, so daß ein Widerspruch mit dem großen Tatsachenmaterial, das wir besonders den systematischen Untersuchungen Friedbergers verdanken, auch hierbei nicht bestehen dürfte.

Wie dem aber auch sei, jedenfalls ergibt sich, daß auch die Maus nach geeigneter Präparierung relativ leicht anaphylaktisch wird, und daß sie dementsprechend auch befähigt ist, immunisatorisch Antieißkörper zu bilden. Wenn die Symptome nicht mit derselben konstanten Vehemenz wie bei Meer-schweinchen und in ausgesprochener Art erst nach Vorbehandlung mit großen Antigendosen zu erzielen sind, so muß es dahingestellt bleiben, ob hierfür mehr der geringe Grad der Fähigkeit zur Antikörperbildung oder die besondere Beschaffenheit des normalen Mäuseserums verantwortlich zu machen ist.

Zusammenfassung.

- 1) Es gelingt relativ leicht, von weißen Mäusen hämolytische Antikörper zu erhalten.
- 2) Eine Aktivierung durch frisches Mäuseserum gelingt weder bei Verwendung dieser Mäuseambozeptoren noch bei Verwendung hämolytischer Kaninchenambozeptoren.
- 3) Dagegen übt Mäuseserum die dem Komplementmittelstück zukommende Wirkung in erheblichem Grade aus.
- 4) Mäuse bilden, wenn auch in geringer Menge, Präzipitin, in stärkerem Maße bei intravenöser Injektion als bei peritonealer Vorbehandlung.
- 5) Ebenso konnten im Serum der mit heterologem Serum vorbehandelten Mäuse komplementbindende Antikörper nachgewiesen werden.
- 6) Mäuse werden in einem erheblichen Prozentsatz bereits nach einmaliger Vorbehandlung mit artfremdem Serum anaphylaktisch, wenn die Reinjektion intravenös erfolgt. Nach zweimaliger Vorbehandlung mit geeigneten Dosen und intravenöser Reinjektion gelingt es fast konstant, typische Anaphylaxiesymptome auszulösen.
- 7) Die Anaphylaxie dokumentiert sich auch in dem Eintritt einer antianaphylaktischen Periode nach dem Ueberstehen einer ersten Reinjektion.

8) In einer Reihe von Versuchen schien die Zufuhr von frischem Meerschweinchenserum (Komplement) die Symptome bei der Reinjektion zu verstärken, zuweilen erst zu ermöglichen, jedoch erwies sich die Notwendigkeit gleichzeitiger Komplementzufuhr für die Auslösung der Anaphylaxie nicht als gesetzmäßig.

9) Es ist nicht notwendig, in der Tatsache, daß das Mäuserum nachweisbares hämolytisches Komplement nicht zu erhalten scheint und die Maus trotzdem auch ohne Komplementzufuhr anaphylaktisch wird, einen Gegensatz zu der herrschenden Auffassung über den Mechanismus der Anaphylaxie zu erblicken.

Nachdruck verboten.

[Institut Pasteur de Bruxelles.]

Recherches sur la constitution de l'alexine et son absorption par les précipités spécifiques.

Par le Dr. Oct. Gengou.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. März 1911.)

Ferrata¹⁾ a montré que si on dialyse du sérum frais de cobaye en présence d'eau de ville et si on sépare par centrifugation le précipité de globulines formé dans ces conditions d'avec le liquide surnageant, ni le premier, ni le second, employés isolément après restitution du sel enlevé par la dialyse, ne sont capables de dissoudre des globules sensibilisés. Au contraire, après rétablissement de la teneur saline, le mélange des globulines et du liquide surnageant est hémolytique. Le concours du précipité de globulines et du liquide surnageant est donc nécessaire pour obtenir l'hémolyse. Ferrata en a conclu que la dialyse divise l'alexine en ses deux constituants: le mittelstück²⁾ qui passe dans le précipité et l'endstück qui reste

1) Ferrata, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Nous croyons préférable d'employer ici les noms de mittelstück et d'endstück utilisés par les auteurs allemands, aucune traduction française n'en ayant été, à notre connaissance, proposée jusqu'à présent.

dans le liquide. Ainsi que Brand¹⁾ l'a montré, le mittelstück, employé isolément, se fixe sur les globules rouges sensibilisés. L'endstück, dans les mêmes conditions, ne se fixe pas; il n'adhère aux globules que si ceux-ci ont préalablement absorbé du mittelstück.

A la suite de ces travaux, divers auteurs ont repris l'étude du mécanisme de la fixation de l'alexine par les éléments sensibilisés. L. Michaelis et Skwirsky²⁾ ont vu qu'en milieu légèrement acide, des globules fortement sensibilisés absorbent le mittelstück, mais pas l'endstück. A froid, d'après Hecker³⁾, Sachs et Bolkowska⁴⁾, des globules fortement sensibilisés absorbent de même le mittelstück, sans fixer l'endstück. Skwirsky⁵⁾ enfin a étudié à ce point de vue, un certain nombre d'exemples de fixation d'alexine, notamment celle que déterminent les précipités spécifiques⁶⁾, celle qui survient dans un mélange de sérum frais, de tuberculine et de sérum d'individu tuberculeux, ainsi que celle qu'on observe au cours de la séroréaction de la syphilis par la méthode de Wassermann. De ses recherches, Skwirsky (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 5, Heft 5, p. 568) conclut que „die Komplementbindung bei allen Arten von Antigen-Antikörperreaktion äußert sich ausschließlich in der Fixation des Mittelstücks, wobei das Endstück vollständig frei, unverbraucht bleibt“. Au contraire, d'après le même auteur (*ibid.*, p. 557), „die spezifische Hämolyse, entgegen den oben angeführten Komplementbindungsreaktionen, kann nur unter quantitativer Beteiligung und Verbrauch des ganzen Komplementkomplexes vor sich gehen“.

D'après Skwirsky, il n'y aurait donc entre la disparition du pouvoir hémolytique d'un sérum frais après contact avec des globules sensibilisés (Bordet)⁷⁾ et la disparition du

1) Brand, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 34.

2) L. Michaelis et Skwirsky, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 4, Heft 5. — *Berl. klin. Wochenschr.*, 1910, No. 4.

3) Hecker, *Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther.*, 1907, Heft 3.

4) Sachs et Bolkowska, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 7, Heft 6.

5) Skwirsky, *Ibid.*, Bd. 5, Heft 5.

6) Gengou, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902; Gay, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 39, 1905; Moreschi, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1905.

7) Bordet, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1900.

pouvoir hémolytique du même sérum après contact avec un précipité spécifique, qu'une analogie incomplète. Dans le premier cas seulement, l'alexine serait en entier absorbée par les éléments sensibilisés; dans le second au contraire, il n'y aurait absorption que du mittelstück, l'endstück restant entièrement libre dans le liquide.

Qu'après contact d'un sérum avec un précipité spécifique, il reste de l'endstück dans le liquide, c'est ce qui résulte bien des expériences de Skwirsky. Nous verrons tantôt que cependant, dans ces conditions, il y a absorption partielle de l'endstück et qu'il est facile de la rendre complète.

Mais nous croyons préférable d'attirer maintenant l'attention sur les conditions expérimentales dans lesquelles s'est placé Skwirsky (ibid., exp. X et XI) pour rechercher si, dans l'hémolyse, les deux constituants de l'alexine disparaissent également du liquide. Lorsqu'on cherche à épuiser un sérum de son alexine par des globules, on a, comme l'on sait, toujours soin de sensibiliser ceux-ci assez fortement, pour que, là où ils ne se dissolvent que incomplètement, ce fait soit dû à une pénurie d'alexine et non à une insuffisance de sensibilisation des hématies. Dans les deux expériences qu'il relate, Skwirsky dit avoir employé, pour sensibiliser ses globules, des quantités d'immunsérum chauffé, égales à 5 fois et à $1\frac{1}{2}$ fois la dose minimale hémolytique; il traite par une quantité déterminée de ces globules des doses décroissantes d'alexine de cobaye. Or, on constate que là où il emploie très peu d'alexine (exp. X, tubes 3 et 3a; exp. XI, t. 2 et 2a), l'hémolyse est extrêmement faible. Ce fait, puisqu'il s'agit d'une expérience d'absorption, devrait être dû à une pénurie d'alexine, et on devrait s'attendre à ne plus retrouver celle-ci dans le liquide où l'hémolyse a fait défaut; or, Skwirsky montre que ce liquide est capable d'hémolyser aussi bien des globules sensibilisés que des globules persensibilisés (au sens de Brand), c'est-à-dire qu'il contient encore mittelstück et endstück, bref de l'alexine. Donc, si, dans les expériences de Skwirsky, l'hémolyse a fait défaut, ce ne peut être dû qu'à une sensibilisation insuffisante des globules. Il va de soi que la même remarque s'applique a fortiori aux cas, où les mêmes globules ont été chargés

d'absorber de plus grandes quantités d'alexine (exp. X, t. 1, 1a, 2, 2a; exp. XI, t. 1 et 1a).

Dans ces expériences, Skwirsky a aussi omis de tenir compte de ce que, ainsi que Bordet et Gay¹⁾ l'ont montré, un sérum, traité par des globules sensibilisés, peut paraître épuisé d'alexine, si on le met ensuite en contact de globules sensibilisés de la même façon que les premiers, tandis qu'il peut encore dissoudre des globules sensibilisés davantage. Or, tandis que pour absorber les éléments constitutifs de l'alexine (exp. X et XI), Skwirsky emploie des globules très peu sensibilisés, il utilise, pour rechercher s'il persiste ou non l'un ou les deux éléments de l'alexine après ce traitement, des globules fortement sensibilisés (40 doses minimales hémolytiques).

Ces remarques nous ont engagé à rechercher, de notre côté, si, au cours de l'hémolyse, il y a disparition équivalente et concomittante du mittelstück et de l'endstück du sérum frais. D'après les expériences que nous avons exécutées à cette fin, tout se passe comme s'il n'en était pas ainsi; car si, comme on va le voir, on peut, après traitement d'un sérum frais par des globules sensibilisés, observer, suivant la quantité d'hématies employée, à cet effet, soit la persistance d'une partie du mittelstück et de l'endstück, soit l'absorption totale de ces deux facteurs, on peut aussi constater la disparition complète du mittelstück et la disparition incomplète de l'endstück.

Disons, une fois pour toutes, que dans toutes les expériences relatées dans cet article, le mittelstück et l'endstück ont été obtenus par dialyse du sérum frais de cobaye en présence d'eau de ville. Après centrifugation, le mittelstück est lavé à l'eau distillée et remis ensuite en suspension dans un volume d'eau distillée, semblable à celui du sérum dont on s'est servi. On s'assure chaque fois que ni le mittelstück, ni l'endstück ne sont par eux-mêmes hémolytiques en milieu salé, tandis que leur mélange dissout les globules sensibilisés. Nous nous sommes servi, pour toutes nos recherches, de globules de chèvre sensibilisés par un volume égal de sérum de lapin-antichèvre chauffé à 55°; une quantité de 0 c.c. 05 de ces

1) Bordet et Gay, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1908.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

globules, délayée dans 1 c.c. NaCl 9‰ est dissoute en 30' à 37° par 0 c.c. 015 de sérum frais de cobaye.

Exp. I. On centrifuge 5 tubes contenant respectivement: (t. I) 0 c.c. 025, (t. II) 0 c.c. 05, (t. III) 0 c.c. 075, (t. IV) 0 c.c. 1, (t. V) 0 c.c. 15 de globules sensibilisés. Sur les sédiments, on verse, dans chaque tube, 0 c.c. 85 NaCl 9‰ et 0 c.c. 15 de sérum frais de cobaye. Après agitation, on place les 5 tubes à 37°. L'hémolyse est complète dans tous après 15 à 20', mais on les laisse une heure à 37°; après quoi, on centrifuge. Chacun des liquides I à V est ensuite divisé en deux parties, comprenant, l'une les $\frac{2}{3}$ (série A), l'autre $\frac{1}{3}$ (série B) de ces liquides. A chacun des tubes I à V de la série A, on ajoute 0 c.c. 33 NaCl 9‰ et 0 c.c. 05 de globules sensibilisés de chèvre; à chacun des tubes I à V de la série B, on ajoute 0 c.c. 66 NaCl 9‰, 0 c.c. 02 de mittelstück¹⁾ redissous par addition de NaCl, et enfin 0 c.c. 05 de globules sensibilisés de chèvre. Les tubes sont ensuite mis à 37°; voici les résultats obtenus.

No. des liquides	Série A ($\frac{2}{3}$ des liquides sans addition de mittelstück)	Série B ($\frac{1}{3}$ des liquides avec addition de mittelstück)
I	Hém. compl. en 1 heure	Hém. compl. en 1 heure
II	" " " 3 heures	" " " 3 heures
III	" nulle " 3 "	" " " 3 "
IV	" " " 3 "	" " " 3 "
V	" " " 3 "	" " " 3 "
VI	" " " 3 "	" " " 3 "
(0 c.c. 04 mittelstück + 1 c.c. NaCl 9‰)		

Comme on le voit, de petites quantités de globules sensibilisés (t. I et II) ont laissé dans le liquide du mittelstück et de l'endstück, puisque (série A) des globules simplement sensibilisés peuvent s'y dissoudre. Au contraire, des doses plus fortes (t. III à V) ont absorbé le mittelstück (pas d'hémolyse dans la série A), mais ont laissé une certaine quantité d'endstück (hémolyse dans la série B, grâce à l'addition d'une petite dose de mittelstück).

On pourrait objecter que l'hémolyse, observée dans les tubes III à V de la série B, est due à ce que l'addition de

1) Nous avons ainsi employé, intentionnellement, la méthode usitée par Skwirsky pour rechercher le mittelstück et l'endstück dans les sérums frais traités par des précipités spécifiques. Cet auteur recherche l'endstück au moyen de globules persensibilisés; pour déceler le mittelstück dans les liquides qui contiennent de l'endstück, il a d'autre part recours à des globules sensibilisés.

mittelstück a pour effet de permettre l'hémolyse par une quantité d'alexine notablement plus faible que celle que nécessite des globules sensibilisés, auxquels on n'ajoute pas de mittelstück. Skwirsky (ibid., p. 562) a observé qu'il n'en est rien, les globules persensibilisés demandant, pour-ainsi-dire, autant d'alexine pour se dissoudre que les globules simplement sensibilisés. L'expérience suivante, faite avec les mêmes matériaux que l'expérience I, confirme cette opinion.

On dispose dans deux séries de tubes (C et D) 0 c.c. 05 de globules sensibilisés de chèvre; on introduit ensuite dans chaque tube de la série D, 0 c.c. 02 de mittelstück, préalablement ramené à la teneur saline physiologique; puis on ajoute des doses croissantes d'alexine de cobaye diluée à $\frac{1}{100}$ et on porte partout le volume à 1 c.c. par addition de NaCl 9‰. Les tubes sont ensuite mis à 37°; voici les résultats observés après 3 heures.

No. des tubes	Dose d'alexine diluée	Série C	Série D
1	0 c.c. 375	Hém. complète	Hém. complète
2	0 " 25	" presque complète	" presque complète
3	0 " 18	" très faible	" " "
4	0 " 125	" nulle	" très " faible "
5	0 " 06	" "	" nulle

On peut donc dire que, sans addition de mittelstück (D), il a fallu 0 c.c. 25 d'alexine diluée à $\frac{1}{100}$ pour obtenir l'hémolyse, tandis qu'il en a fallu 0 c.c. 18 pour arriver au même résultat après addition de 0 c.c. 02 de mittelstück. Or, il faut remarquer que dans les tubes de la série B de l'exp. I, nous n'avons employé qu'un tiers des liquides I à V, une quantité double ayant été réservée aux tubes de la série A. En supposant que le tube V de la série B, contienne précisément la dose d'alexine minimale (0,18 c.c. d'alexine à $\frac{1}{100}$), capable de produire l'hémolyse avec le concours de 0 c.c. 02 de mittelstück, on devrait admettre dans le tube correspondant de la série A une dose double d'alexine (soit 0 c.c. 36 d'alexine à $\frac{1}{100}$), c'est-à-dire une quantité parfaitement suffisante pour déterminer l'hémolyse. Or, dans ce tube, comme dans les deux précédents du reste, l'hémolyse a fait défaut.

On peut donc conclure de cette expérience, que les doses élevées de globules ont épuisé le sérum de cobaye de son

mittelstück, tout en laissant dans le liquide une certaine quantité d'endstück.

Exp. II. L'épuisement d'un sérum frais de son mittelstück et de son endstück est proportionnel à la durée de l'absorption et à la quantité de globules employée pour l'effectuer.

On prépare 3 séries de tubes, contenant respectivement par tube, dans la série A: 0 c.c. 1, dans la série B 0 c.c. 25 et dans la série C 0 c.c. 5 de globules sensibilisés de chèvre. Tous ces tubes sont centrifugés et on verse sur le sédiment de chacun d'eux 0 c.c. 85 NaCl 9‰ et 0 c.c. 15 de sérum frais de cobaye. Après mélange, ils sont placés à 37° pendant des laps de temps variables: après une heure, on centrifuge un tube de chaque série; on fait de même après 2, après 4 et après 6 heures. On obtient ainsi une série de liquides, qui, suivant les séries A, B, C, ont été en contact avec des quantités croissantes de globules sensibilisés, et dont le contact avec ces globules, dans une même série, a été de 1, 2, 4 ou 6 heures. Chacun de ces liquides est divisé en deux parties, contenant l'une les $\frac{2}{3}$ du liquide (colonne I du tableau suivant), l'autre $\frac{1}{3}$ (colonne II). On ajoute à chaque tube une quantité suffisante de NaCl 9‰ pour porter le volume à 1 c.c.; on introduit ensuite dans chaque tube de la colonne II, 0 c.c. 02 de mittelstück; enfin, chaque tube reçoit 0 c.c. 05 de globules sensibilisés de chèvre. Le tout est mis à 37°; voici les résultats observés après 2 heures.

Durée de l'absorption	Col. I ($\frac{2}{3}$ des liquides, sans addition de mittelstück)					
	A		B		C	
	tubes		tubes		tubes	
1 heure	1	Hém. compl.	5	Hém. nulle	9	Hém. nulle
2 heures	2	" faible	6	" "	10	" "
4 "	3	" nulle	7	" "	11	" "
6 "	4	" "	8	" "	12	" "

Durée de l'absorption	Col. II ($\frac{1}{3}$ des liquides, avec addition de 0 c.c. 02 de mittelstück)					
	A		B		C	
	tubes		tubes		tubes	
1 heure	13	Hém. compl.	17	Hém. assez forte	21	Hém. assez forte
2 heures	14	" "	18	" " "	22	" faible
4 "	15	" "	19	" " "	23	" nulle
6 "	16	" "	20	" faible "	24	" "

Cette expérience confirme les résultats de l'expérience précédente. En effet, pour une même quantité de globules, on peut, après un temps déterminé, observer une disparition complète du mittelstück, alors qu'il reste encore dans le liquide une certaine quantité d'endstück (comparer, p. ex., les

tubes 3 et 15, 4 et 16, 5 et 17, 6 et 18, 9 et 21). Comme on pouvait le prévoir, cette expérience montre en outre que, pour une même quantité de globules, la quantité de mittelstück absorbée augmente avec la durée du contact (col. I, série A); il en est de même pour l'endstück (col. II, série C). Enfin, après un contact d'une durée déterminée, la quantité de mittelstück absorbée augmente avec le nombre de globules employé (tubes 1, 5 et 9); il en est de même pour l'endstück (comp. les tubes 14, 18 et 22; les tubes 15, 19 et 23).

Ce qu'il faut retenir de là, c'est que, dans les conditions expérimentales habituelles, sans que l'on ait modifié la réaction du milieu, ainsi que l'ont fait L. Michaelis et Skwirsky, l'absorption par les globules rouges sensibilisés des deux substances qui coopèrent à l'hémolyse par les sérums frais et que l'on réunit communément sous le nom d'alexine, ne se fait pas d'une façon équivalente et concomittante; quand on emploie des doses convenables d'hématies sensibilisées, on peut observer l'absorption complète du mittelstück du sérum et la persistance dans ce dernier d'une certaine quantité d'endstück.

Ce sont des faits semblables que nous avons observés en mettant le sérum frais en contact non plus de globules sensibilisés, mais de précipités spécifiques.

Ainsi que Skwirsky l'a constaté, si on mélange à du sérum frais de cobaye une certaine quantité d'un précipité spécifique, il reste, après centrifugation de ce dernier, de l'endstück dans le liquide; celui-ci est en effet capable de dissoudre des globules persensibilisés, alors qu'il est sans action sur les globules sensibilisés. Seulement, contrairement aux conclusions de Skwirsky, nos recherches montrent que c'est non pas la totalité, mais une partie seulement de l'endstück qui reste, non absorbée, dans le liquide.

Mais avant d'exposer les expériences que nous avons faites à ce sujet, nous devons d'abord établir qu'en l'absence de mittelstück, les précipités spécifiques ne fixent pas l'endstück.

Exp. III. On mélange à 0 c.c. 5 de sérum humain chauffé à 55°, 2 c.c. 5 de sérum de lapin-antihomme, également chauffé à 55°. Le lendemain, le précipité est lavé à l'eau physiologique et remis en suspension dans 2 c.c. de NaCl 9‰. On prépare en même temps, par dialyse, du

mittelstück et de l'endstück; ceux-ci, agissant ensemble, à la dose de 0 c.c. 03 chacun, hémolysent en 30' à 37° 0 c.c. 05 de globules sensibilisés de chèvre, délayés dans 1 c.c. d'eau physiologique.

On établit tout d'abord la quantité minimale de précipité spécifique, suffisante pour absorber complètement 0 c.c. 09 de mittelstück dissous dans 1 c.c. NaCl 9‰. On recherche si le mittelstück est complètement absorbé en additionnant le liquide ainsi traité, après centrifugation du précipité, de 0 c.c. 05 de globules sensibilisés et de 0 c.c. 03 d'endstück. On constate de cette façon qu'une dose de 0 c.c. 09 de mittelstück est complètement absorbée par 0 c.c. 001 de précipité spécifique. Or une quantité de ce dernier, 200 fois supérieure à cette dose, est incapable d'absorber 0 c.c. 09 d'endstück, car après éloignement du précipité spécifique, le liquide hémolyse encore des globules rouges sensibilisés additionnés de mittelstück.

En l'absence de mittelstück, les précipités spécifiques se comportent donc comme les globules sensibilisés vis-à-vis de l'endstück et ne l'absorbent pas.

Voyons maintenant comment ils se comportent vis-à-vis de l'endstück en présence de mittelstück.

Exp. IV. On provoque la formation d'un précipité spécifique par mélange de 2 c.c. de sérum de cobaye, chauffé à 55° et de 12 c.c. de sérum de lapin-anticobaye, chauffé à 55°. Le lendemain, le précipité est lavé et remis en suspension dans 2 c.c. d'eau physiologique.

A 0.1 c.c. de ce précipité, on ajoute 0 c.c. 85 de NaCl 9‰ et 0 c.c. 15 de sérum frais de cobaye; après 4 heures à 37°, on centrifuge et on divise, comme dans les expériences précédentes, le liquide en 2 parties, l'une (A) contenant les $\frac{2}{3}$ du liquide, l'autre $\frac{1}{3}$ (B). A toutes deux, on ajoute l'eau physiologique nécessaire pour porter le volume du liquide à 1 c.c.; on introduit en B 0 c.c. 02 de mittelstück, puis, les 2 tubes reçoivent, 0 c.c. 05 de globules de chèvre sensibilisés. Après 1 h 30 à 37°, on trouve les globules intacts en A, tandis que l'hémolyse est nette, mais incomplète en B.

Alors que le mittelstück a été en entier absorbé, il est donc resté dans le liquide une certaine quantité d'endstück; nous avons établi la quantité d'endstück ainsi restée libre, en cherchant la dose d'endstück qui, additionnée à 0 c.c. 02 de mittelstück, donne aussi, après 1 h 30 à 37°, une hémolyse nette, mais incomplète de 0 c.c. 05 de globules sensibilisés. Dans ces conditions, l'hémolyse était complète avec 0 c.c. 01 d'endstück, presque complète avec 0,005 c.c. et nette, avec 0,003 c.c.

On peut donc dire que, dans l'exp. III, le tube B contenait au maximum 0,005 c.c. d'endstück, et le liquide entier, partagé entre A et B, en contenait par conséquent 0 c.c. 015, soit la dixième partie de l'alexine mise en contact du précipité spécifique.

En même temps qu'ils absorbent le mittelstück, les précipités spécifiques absorbent donc une certaine quantité d'endstück. Ce fait fut observé dans toutes les expériences que nous avons effectuées, la portion d'endstück restée libre dans le liquide variant de la moitié au dixième de la quantité employée.

Ce résultat nous a engagé à rechercher si l'absorption de l'endstück par les précipités spécifiques ne deviendrait pas complète, si, à l'endstück non fixé par un précipité spécifique, on ajoutait une certaine quantité de mittelstück, le mélange étant ensuite soumis à l'action absorbante d'une nouvelle dose de précipité.

Exp. V. On obtient un précipité spécifique par mélange de 1 c.c. de sérum humain chauffé à 55° et de 5 c.c. de sérum de lapin anti-homme chauffé à 55°. Après lavage, le précipité est remis en suspension dans 1 c.c. 2 de NaCl 9 ‰. On détermine ensuite que l'hémolyse de 0 c.c. 025 de globules de chèvre sensibilisés, délayés dans 1 c.c. d'eau physiologique, est complète par addition de 0 c.c. 02 du mittelstück et 0 c.c. 02 de l'endstück employés dans cette expérience.

On fait ensuite les 4 mélanges suivants:

- I. Précipité spécifique: 0 c.c. 4 + eau physiol. 7 c.c. 2 + mittelstück 0 c.c. 2 + endstück 0 c.c. 2.
- II. Précipité spécifique: 0 c.c. 4 + eau physiol. 7 c.c. 4 + endstück 0 c.c. 2. Pas de mittelstück.
- III. Eau physiol. 7 c.c. 6 + mittelstück 0 c.c. 2 + endstück 0 c.c. 2. Pas de précipité.
- IV. Eau physiol. 7 c.c. 8 + endstück 0 c.c. 2. Ni mittelstück, ni précipité.

Après un séjour de 1 heure à 37°, on centrifuge I et II; chacun des liquides I à IV est ensuite divisé en deux parties égales (A et B). La moitié A sert à établir quelle est à ce moment la teneur de chacun des liquides I à IV en mittelstück et en endstück (voir plus loin). La moitié B est remise à 37° pendant 1 heure, après addition au liq. I de 0 c.c. 2 de précipité spécifique + 0 c.c. 05 mittelstück, au liq. II de 0 c.c. 2 de précipité spécifique (sans mittelstück) et au liq. III de 0 c.c. 05 de mittelstück. De la sorte, l'endstück resté dans le liquide I après la première absorption est soumis à un nouveau contact avec un nouvelle quantité de précipité spécifique en présence d'une nouvelle dose de mittelstück, le même contact étant réalisé dans le liquide II en l'absence de mittelstück. Les 2 tubes sont centrifugés après une heure et les liquides, éprouvés, comme ceux de la série A, au point de vue de leur teneur en mittelstück et en endstück.

Pour rechercher l'endstück, on ajoute à des doses décroissantes des liquides I, II et IV des séries A et B, 0 c.c. 05 de mittelstück et 0 c.c. 025 de globules de chèvre sensibilisés, le volume des mélanges étant porté à

1 c. c. par addition de NaCl 9‰. On opère de même pour les liquides III des séries A et B; toutefois on n'ajoute pas de mittelstück à ces liquides, puisqu'ils en sont pourvus depuis le début de l'expérience. Les tubes sont mis à 37°; voici les résultats observés après 1½ heure.

Liquides	Doses employées des liquides de la série A			
	1 c. c.	0 c. c. 7	0 c. c. 5	0 c. c. 3
I	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. nette	Hém. traces
II	id.	id.	Hém. compl.	Hém. presque compl.
III	"	"	id.	id.
IV	"	"	"	"

Liquides	Doses employées des liquides de la série B			
	1 c. c.	0 c. c. 7	0 c. c. 5	0 c. c. 3
I	Hém. nulle	Hém. nulle	Hém. compl.	Hém. nulle
II	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. nulle	Hém. presque compl.
III	id.	id.	id.	id.
IV	"	"	"	"

Comme on le voit, malgré un contact répété avec un précipité spécifique, le liquide II contient tout autant d'endstück que les liquides III et IV, qui n'ont pas été soumis à ce contact. Le liquide I, au contraire, en renferme déjà moins après le premier contact et n'en contient plus après le second.

Bien que la disparition de l'endstück du liquide I implique la disparition du mittelstück, l'expérience a été complétée par la recherche du mittelstück dans le liquide III et dans le liquide I. Cette recherche a été faite, comme d'habitude, en mettant 1 c. c. des liquides I et III des deux séries A et B en contact avec 0 c. c. 025 de globules sensibilisés de chèvre. On a constaté, comme il fallait s'y attendre, que, tandis que le liquide III contenait naturellement le mittelstück qu'on y avait introduit, le liquide I n'en renfermait plus.

Ces dernières expériences prouvent que si, comme Skwirsky l'a montré, les précipités spécifiques, mis en contact avec l'alexine, laissent de l'endstück dans le liquide alors qu'ils fixent le mittelstück, ils absorbent cependant, en même temps que celui-ci, une certaine quantité d'endstück, le reste pouvant être fixé à son tour si on le traite par une nouvelle dose de précipité spécifique additionné de mittelstück.

Ce mode d'action des précipités spécifiques sur l'alexine ne diffère pas, dans son essence, de la fixation de l'alexine

par les globules rouges sensibilisés. En effet, les faits que nous venons de signaler, montrent que les précipités spécifiques n'absorbent pas le mittelstück et l'endstück d'une façon équivalente et concomittante. Or, ce manque de concordance dans l'absorption du mittelstück et de l'endstück peut s'observer aussi, comme nous l'avons démontré plus haut, quand, au lieu de précipité spécifique, on emploie des doses appropriées de globules sensibilisés. La fixation de l'alexine par les précipités spécifiques est donc bien, ainsi que nous l'avons établi précédemment, un phénomène comparable à l'absorption de l'alexine par les éléments morphologiques sensibilisés.

Les faits que nous avons rapportés jusqu'ici ne peuvent se concilier avec l'hypothèse émise par Ferrata, et reprise depuis par divers auteurs, sur la constitution de l'alexine. D'après ces savants, le pouvoir hémolytique du sérum frais serait dû à un corps constitué de deux groupes, le mittelstück et l'endstück, dissociables par divers procédés, tels que la dialyse, le froid, l'acidité du milieu, mais étant unis, dans le sérum frais où ils constituent l'alexine. A vrai dire, cette idée se concilie déjà difficilement avec certaines expériences de nos prédécesseurs, ce qui a amené Sachs et Altmann à considérer le mittelstück et l'endstück comme étant unis normalement par une combinaison lâche. Mais cette modification à l'hypothèse de Ferrata n'est pas mieux que cette dernière en harmonie avec le fait que les précipités spécifiques n'absorbent pas d'une façon équivalente et concomittante le mittelstück et l'endstück; on ne peut admettre en effet que la simple addition d'un précipité spécifique suffise à scinder en deux fragments, une partie de l'alexine. Ce fait porte, au contraire, à penser que l'hémolyse par les sérums frais est due à l'action successive de deux facteurs qui ne sont pas unis dans le sérum, facteurs auxquels on peut donner les noms de mittelstück et d'endstück, le premier se fixant aisément sur les éléments sensibilisés, le second n'étant absorbé par ceux-ci que plus difficilement et seulement à la faveur de la fixation du premier. Cette opinion s'appuie en outre sur les expériences que nous avons relatées plus haut et d'après lesquelles les hématies sensibilisées fixent rapidement le mittelstück entier, l'absorption de l'endstück ne se faisant

au contraire que plus lentement et exigeant d'autant plus de temps que la quantité de globules mise en jeu est plus faible. Il ne faut pas oublier au reste, que c'est en somme uniquement l'existence du pouvoir bactériolytique et hémolytique des sérums frais qui a fait admettre la présence, dans ceux-ci, d'une substance unique à laquelle on a donné le nom d'alexine.

Il est donc aussi impossible de considérer, avec Skwirsky, le mittelstück et l'endstück comme les groupes respectivement haptophore et toxophore de l'alexine, au sens qu'Ehrlich a donné à ces termes, attendu que les faits tendent à prouver qu'il s'agit là de facteurs existant séparément dans le sérum et non de deux groupes soudés en un seul corps. Si on voulait néanmoins décorer ces deux facteurs, normalement séparés dans le sérum, des noms de groupes haptophore et toxophore, il faudrait logiquement attribuer respectivement les mêmes désignations aux agglutinines normales et spécifiques d'une part, qui se fixent sur les éléments morphologiques sans provoquer par elles-mêmes l'agglutination des ces éléments, et aux sels d'autre part, qui, ainsi que Bordet¹⁾ l'a montré, déterminent l'agglomération des éléments chargés d'agglutinine.

Les précipités spécifiques absorbent donc, comme les globules sensibilisés, et le mittelstück et l'endstück, la fixation de ce dernier n'étant possible qu'après celle du premier et restant habituellement incomplète; il nous a paru intéressant de comparer à cette action des précipités spécifiques sur l'alexine, celle des précipités non spécifiques. Skwirsky²⁾ a constaté que, mis en présence de sérum frais, le kaolin enlève les deux éléments constitutifs de l'alexine; pensant que les précipités spécifiques n'absorbaient pas l'endstück, même en présence de mittelstück, il avait cru trouver là une différence dans le mode d'action des précipités spécifiques et des précipités non spécifiques. L'expérience suivante montre que la différence dans l'action de ces deux genres de précipités n'est pas là, et qu'elle réside en ceci que, tandis que les précipités spécifiques n'absorbent l'endstück que s'ils ont

1) Bordet, Annales de l'Inst. Pasteur, 1899.

2) Skwirsky, Loc. cit.

préalablement fixé du mittelstück, les précipités non spécifiques au contraire peuvent fixer l'endstück sans le concours du mittelstück.

Exp. VI. On prépare, par la méthode de Ferrata, du mittelstück et de l'endstück de cobaye; on s'assure que ces éléments sont séparément incapables de dissoudre des globules sensibilisés de chèvre et qu'au contraire, le mélange de 0 c. c. 02 de mittelstück et de 0 c. c. 02 d'endstück hémolyse ces globules.

On prépare en outre du sulfate de baryum, qu'on lave à l'eau distillée des sels solubles (BaCl_2 , Na_2SO_4) qui ont servi à sa préparation et qu'on remet ensuite en suspension dans NaCl 9‰. Des quantités croissantes de cette suspension sont mises en contact de 0 c. c. 06 de mittelstück d'une part (série A), de 0 c. c. 06 d'endstück d'autre part (série B), le volume des mélanges étant partout porté à 1 c. c. par addition de NaCl 9‰. Après un contact de 2 heures à 37°, on centrifuge. On recherche le mittelstück dans les liquides de la série A par addition de 0 c. c. 02 d'endstück et de globules sensibilisés; et de même, l'endstück dans les liquides de la série B par addition de 0 c. c. 02 de mittelstück et de globules sensibilisés.

Nous avons constaté de la sorte qu'une goutte de l'émulsion de BaSO_4 que nous avons utilisée suffit à absorber complètement 0 c. c. 06 de mittelstück. On peut de même enlever d'un liquide une quantité équivalente d'endstück; mais il faut pour cela 20 fois plus de sulfate de baryum.

Il convient de remarquer combien l'absorption de l'endstück par un précipité non spécifique est plus difficile que celle du mittelstück. Mais il ne faut pas oublier que, par la méthode de Ferrata, le mittelstück, après redissolution du précipité de globulines par NaCl , n'est accompagné dans le liquide que de la partie des globulines qui a été précipitée par la dialyse. Au contraire, après dialyse, l'endstück demeure en solution en même temps que le reste des globulines et les albumines du sérum. Or on sait¹⁾ que plus un milieu est riche en colloïdes stables, plus les phénomènes d'absorption par les corps insolubles y sont difficiles. Cela nous permet de comprendre la différence qui existe dans l'absorption par le sulfate de baryum, du mittelstück et de l'endstück, mis séparément au contact de ce corps insoluble.

Quoique plus difficile que celle du mittelstück, l'absorption de l'endstück seul par les précipités non spécifiques se fait;

1) Gengou, Archives intern. de physiol., 1908.

au contraire, ainsi que nous venons de le montrer, l'endstück, en l'absence de mittelstück, n'est pas absorbé par les précipités spécifiques, même si on emploie des quantités considérables de ceux-ci. C'est là que gît la différence dans l'absorption de l'alexine, par les précipités spécifiques d'une part, par les précipités non spécifiques, de l'autre¹).

Zusammenfassung.

1) Das Mittelstück wird, wie längst bekannt, durch die spezifischen Niederschläge gebunden. Wenn dies geschehen ist, wird das Endstück auch absorbiert; die Endstückbindung findet jedoch nicht so leicht statt wie die Mittelstückbindung.

2) Ebenso findet die Mittelstückbindung durch die sensibilisierten Blutkörperchen leichter statt, als die Endstückbindung durch die persensibilisierten Blutkörperchen. Wenn man Blutkörperchen in passender Menge anwendet, ist es möglich, das ganze Mittelstück des Serums zu absorbieren, indem ein Teil des Endstücks in der Flüssigkeit frei bleibt.

3) Es scheint, daß man daraus schließen kann, daß die frischen Sera ihr hämolytisches und bakteriolytisches Vermögen zwei hintereinander wirkenden Faktoren — Mittelstück und Endstück — verdanken, welche im nativen Serum in einer einzigen Substanz nicht zusammen gebunden sind.

4) Wenn kein Mittelstück vorhanden ist, wird das Endstück durch die spezifischen Niederschläge wie durch die sensibilisierten Blutkörperchen nicht gebunden. Im Gegenteil wird es unter solchen Bedingungen durch die nicht spezifischen Niederschläge absorbiert.

1) Il va de soi que, de ce que les précipités non spécifiques sont capables d'absorber l'endstück dans des conditions où ni les globules sensibilisés ni les précipités spécifiques ne peuvent le faire, on ne doit pas déduire que la fixation du mittelstück par ces derniers et la fixation consécutive de l'endstück ne sont pas des phénomènes régis par les lois de l'absorption, comme l'est l'adhésion aux précipités non spécifiques des deux éléments qu'on réunit sous le nom d'alexine.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Laboratorium zu Helsingfors (Direktor:
Prof. Dr. Taav. Laitinen).]

Ueber den Nachweis von verschiedenartigem pflanzlichen Eiweiß durch Konglutination.

Von **J. O. Sauli**, Helsingfors.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Februar 1911.)

Mehrere Forscher haben die Eiweißstoffe der Pflanzen durch verschiedenartige serologische Methoden voneinander unterscheiden können.

So haben Bertarelli (1), Relander (2), Magnus und Friedenthal (3), Raubitschek (4), Kowarski (5), Gasis (6), Wendelstadt und Fellmer (7) bewiesen, daß dies mittelst der Präzipitation vor sich geht. Die Komplementfixation haben Landsteiner und Stankovic (8), sowie Wendelstadt und Fellmer (7) verwendet. Die letztgenannten Forscher, wie auch Karasawa (9) haben auch die durch die Eiweißstoffe der Pflanzen in den Tieren hervorgerufene Anaphylaxie untersucht.

Zu den obengenannten serologischen Methoden ist in den letzten Jahren eine neue Reaktion, die sogenannte Konglutination, hinzugekommen, die darauf beruht, daß das Rinder Serum einige Stoffe, sogenannte Konglutinine enthält, die bei Gegenwart von Antigen, Ambozeptor und Komplement eine charakteristische Zusammenballung bilden, die nicht mit der durch die Agglutinine und Präzipitine hervorgerufenen Zusammenballung zu verwechseln ist.

Die Benennungen Konglutinin und Konglutination wurden zum ersten Mal in den Arbeiten angewendet, welche Bordet und Streng (10) über die Zusammenballung der Blutkörperchen und Streng (11) zu gleicher Zeit über die Zusammenballung der Mikroben veröffentlicht haben. Früher hatten schon Muir et Browning (12), Bordet, Gay (13) u. a. analoge Zusammenballungen bemerkt, die sie jedoch noch für Agglutination hielten. Bordet und Gay (13) glaubten, daß sie durch denselben Stoff im Rinder Serum „colloïde de bœuf“ hervorgerufen sei, der ihrer Meinung nach imstande sei, die Hämolyse zu verstärken. Die Reaktion ist später von

manchen Forschern. Sleeswijk (14), Cohen (15), Streng (16), Gengou (17), Jakobaeus (18) u. a. mit Erfolg verwendet worden. Neulich hat Barikine (19) bewiesen, daß es im Rinderserum analoge Stoffe gibt, die instande sind, auch die spezifische Präzipitation bei Gegenwart von Komplement zu verstärken, daß also für das Hervortreten der Wirkung der Konglutinine keine geformten Elemente, Blutkörperchen (Bordet, Streng), Mikroben (Streng) notwendig sind, sondern daß auch die ungeformten Elemente konglutiniert werden, wenn genug Komplement vorhanden ist. Eine analoge Beobachtung hatte schon Streng (20) bei seiner Untersuchung über die Zusammenballung des Lecithins durch das Rinderserum gemacht¹⁾. Gengou (17) hat ähnliche Reaktionen mit anderen kolloidalen Emulsionen wie Harz und Stärke bekommen.

Soweit man aus der Literatur entnehmen kann, ist noch nicht versucht worden, wie diese Reaktion mit den Eiweißstoffen der Pflanzen und mit der Präzipitationszusammenballung der Immunsera derselben ausfällt.

Hierzu bot sich mir eine günstige Gelegenheit dar, da ich über eine große Menge Sera von mittelst des Samenextraktes verschiedener Pflanzen immunisierten Kaninchen verfügte. Die Sera hatte ich hauptsächlich präpariert, um Experimente mit der Komplementfixationsreaktion zu machen. Die durch diese Experimente erhaltenen Resultate, die später veröffentlicht werden, zeigen, wie die Experimente Wendelstadts und Fellmers, daß die Eiweißextrakte verschiedener Pflanzen durch diese Methode voneinander unterschieden werden können.

Im folgenden werden einige Resultate meiner Experimente mit der Konglutinationsreaktion referiert. Die Experimente wurden folgenderweise gemacht. Das Immunserum und das Eiweißextrakt wurden auf 2 Stunden bei 37° C in Kontakt gebracht, wonach frisches aktives Rinderserum hinzugefügt wurde. Eine sichtbare Präzipitation entstand, wie aus der Tabelle I hervorgeht, in den Tuben, wo größere Mengen Immunserum vorhanden waren. Wenn anstatt des aktiven Rinderserums bei 56° C inaktiviertes Rinderserum und als

1) „Eine verstärkte Reaktion, eine Konglutination, analog wie bei Blutkörperchen und Mikroben, könnte so auch ohne Gegenwart von geformten Elementen entstehen. Einige vorläufige Versuche sprechen dafür.“

Komplement die Sera eines Pferdes, Schafes oder Meerschweinchens verwendet wurden, gaben die Experimente auch in dem Falle dieselben Endresultate, wie bei der Verwendung des aktiven Rinderserums, wenn nur das als Komplement verwendete Serum frisch war und wenn davon genügende Mengen verwendet wurden. Falls das aktive Rinderserum älter als drei Tage war, kam man nicht zu günstigen Resultaten.

Die Eiweißextrakte wurden so präpariert, daß immer gegen 1,0 g verfeinertes und gesiehtes Samenpulver in 200 ccm physiologischer Salzlösung gelegt wurde. (Beim Immunisieren wurde 10mal mehr Pulver gegen dieselbe Menge Salzlösung verwendet.) Nachdem das Extrakt eine Stunde gestanden hatte, wurde es filtriert und an demselben Tage verwendet. Von diesen Extrakten wurde der totale Stickstoff festgestellt (nach Kjeldahl) und der Prozentsatz von Eiweiß berechnet.

In der Tabelle I (p. 362) wird das Extrakt einer Wasserrübe (*Brassica rapa rapifera*) mit dem einer Erbse (*Pisum sativum*) verglichen. Im Experimente ist Br.-rapa-rap.-Immunserum verwendet worden. — Nach 2 Stunden war in den Tuben 1, 7 und 22 eine sehr deutliche Präzipitation sichtbar, wobei Rinderserum hinzugefügt wurde (in die Tuben 1—21). In die Tuben 22—29 wurde dieselbe Menge physiologischer Kochsalzlösung zugefügt. Nachdem man die Tuben einige Minuten geschüttelt hatte, bemerkte man in der Tube 1 eine sehr deutliche charakteristische Zusammenballung, die später als große Flocken auf den Boden der Tube niedersank, wobei die Flüssigkeit klar blieb. In den Tuben 7 und 22 war eine Ausflockung auch sichtbar, welche die Flüssigkeit die ganze Zeit trüb hielt und in ihnen konnte man keinerlei Flockenbildung bemerken. Das inaktive Rinderserum verursachte also keine sichtbare Veränderung in der Präzipitation, wogegen das aktive Rinderserum ein Konglutinationsphänomen ergab. Und weiter die Konglutination wurde auch in dem Falle sichtbar, wo man die Präzipitation mit bloßem Auge nicht sehen konnte (vergl. die Tuben 2, 3 und 4 mit den Tuben 8, 9, 10 und 23, 24 und 25). Hiervon spricht auch Barikine (19).

Tabelle I.

Tube	Extrakt ccm	Immun- serum ccm	Rinder- serum ccm	Ausflockung ¹⁾ nach			
				20'	30'	60'	120'
	Br. rapa rap.	Br. rapa rap.					
1	1,0	0,08	aktiv	++++	++++	++++	++++
2	1,0	0,02	0,4	++	++	++++	++++
3	1,0	0,01	0,4	—	+	++	++
4	1,0	0,005	0,4	—	—	—	++
5	1,0	0	0,4	—	—	—	+
6	0	0,08	0,4	—	—	—	—
			inaktiv				
7	1,0	0,08	0,4	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
8	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
9	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
10	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—
11	1,0	0	0,4	—	—	—	—
	Pisum sat.	Br. rapa rap.	aktiv				
12	1,0	0,08	0,4	—	—	+	+
13	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
14	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
15	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—
16	1,0	0	0,4	—	—	—	—
			inaktiv				
17	1,0	0,08	0,4	—	—	—	schwache Trübung
18	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
19	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
20	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—
21	1,0	0	0,4	—	—	—	—
	Br. rapa rap.	Br. rapa rap.	Physiol. Kochsalzl.				
22	1,0	0,08	0,4	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
23	1,0	0,02	0,4	—	—	schwache Trübung	schwache Trübung
24	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
25	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—
	Pisum sat.						
26	1,0	0,08	0,4	—	—	—	schwache Trübung
27	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
28	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
29	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—

Das Extrakt der Erbse ergab mit dem Immunserum der Wasserrübe nur eine schwache Konglutination und auch dies nur, falls größere Mengen Antiserum verwendet wurden. Der Rotklee (*Trifolium pratense*) ergab keinerlei Reaktion nach Verlauf zweier Stunden (Tabelle II).

1) ++++ bedeutet eine sehr starke Ausflockung (Konglutination), +++ eine ziemlich starke, ++ eine starke, + eine schwache, — keine Ausflockung (Trübung).

Tabelle II.

Tubo	Extrakt ccm	Immun- serum ccm	Aktiv. Rinder- serum ccm	Konglutinationsstärke nach			
				20'	30'	60'	120'
1	Br. rapa rap. 1,0	Br. rapa rap. 0,08	0,4	++++	++++	++++	++++
2	1,0	0,02	0,4	++	++	+++	++++
3	1,0	0,01	0,4	—	+	++	++
4	1,0	0,005	0,4	—	—	—	++
5	1,0	0	0,4	—	—	—	+
6	Br. napus rap. 1,0	0,08	0,4	++++	++++	++++	++++
7	1,0	0,02	0,4	+	+	++	++++
8	1,0	0,01	0,4	—	—	—	+
9	1,0	0,005	0,4	—	—	—	+
10	1,0	0	0,4	—	—	—	+
11	Trif. prat. 1,0	0,08	0,4	—	—	—	—
12	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
13	1,0	0,01	0,4	—	—	—	—
14	1,0	0,005	0,4	—	—	—	—
15	1,0	0	0,4	—	—	—	—
16	Br. rapa rap. 1,0	Normal- Kan.-Serum 0,08	0,4	—	—	—	+
17	1,0	0,02	0,4	—	—	—	+
18	Br. napus rap. 1,0	0,08	0,4	—	—	—	+
19	1,0	0,02	0,4	—	—	—	+
20	Trif. prat. 1,0	0,08	0,4	—	—	—	—
21	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—

Dagegen war es schon schwer, einen Unterschied zwischen dem Eiweißextrakt z. B. einer Wasserrübe (*Br. rapa rap.*) und dem einer Kohlrübe (*Br. napus rap.*) zu finden. Aus der Tabelle II sehen wir, daß diese mit dem Immunserum der Wasserrübe eine schwächere Konglutination als jene ergab, wenn genug kleine Mengen Immunserum verwendet wurden. (Weder mit der Präzipitationsreaktion noch mit der Komplementfixation gelang es mir so, einen deutlichen Unterschied zwischen den obengenannten Extrakten zu machen.)

Im allgemeinen gesagt ergab das *Br.-rapa-rap.-Immunserum* eine kräftige Reaktion bei allen Pflanzen der Familie *Cruciferae*, aber eine ganz schwache oder gar keine bei den Arten der Familie *Papilionaceae*.

Aus den Tabellen I und II sehen wir, daß das aktive Rinder Serum schon nach 2 Stunden eine schwache Reaktion mit den Eiweißextrakten der Wasserrübe und Kohlrübe ergibt. Die Erbse und der Klee ergeben binnen dieser Zeit kein sichtbares Resultat. Wenn 0,08 ccm und noch geringere Mengen von dem normalen Kaninchenserum statt des Immunserums verwendet wurden, entstand keine Reaktion (Tabelle II).

Tabelle III.

Tube	Extrakt ccm	Immun- serum ccm	Aktiv. Rinder- serum ccm	Konglutinationsstärke nach			
				20'	30'	60'	120'
	V. faba I	V. faba I					
1	1,0	0,12	0,5	+	++	+++	++++
2	1,0	0,08	0,5	—	+	++	++++
3	1,0	0,04	0,5	—	—	+	++
4	1,0	0,02	0,5	—	—	—	+
5	1,0	0	0,5	—	—	—	—
	V. faba II						
6	1,0	0,12	0,5	+	++	+++	++++
7	1,0	0,08	0,5	—	+	++	++++
8	1,0	0,04	0,5	—	—	—	++
9	1,0	0,02	0,5	—	—	—	—
10	1,0	0	0,5	—	—	—	—
	Pisum sat.						
11	1,0	0,12	0,5	—	—	+	+++
12	1,0	0,08	0,5	—	—	+	++
13	1,0	0,04	0,5	—	—	—	+
14	1,0	0,02	0,5	—	—	—	—
15	1,0	0	0,5	—	—	—	—
	Pisum sat.	Pisum sat.					
16	1,0	0,12	0,5	+	++	+++	++++
17	1,0	0,08	0,5	—	+	++	++++
18	1,0	0,04	0,5	—	—	+	+++
19	1,0	0,02	0,5	—	—	—	+
	V. faba I						
20	1,0	0,12	0,5	—	—	+	+++
21	1,0	0,08	0,5	—	—	+	++
22	1,0	0,04	0,5	—	—	—	+
23	1,0	0,02	0,5	—	—	—	—
24	0	0,12	0,5	—	—	—	—

Wenn man dann mit dem Immunserum der Pferdebohne, *Vicia faba* (I) aquina (Tabelle III), zuerst mit deren eigenem Extrakt und dann mit dem der *Vicia faba* (II) atropurpurea und dem der grünen Erbse, *Pisum sativum*, experimentierte, bekam man auch jetzt einen deutlichen Unterschied zwischen dem Extrakte der Pferdebohne und dem der Erbse, obwohl

der Unterschied nicht so deutlich war, wie er in der Tabelle I hervortritt. Es ist sogar möglich gewesen, einen Unterschied zwischen zwei so nahe verwandten Abarten zu bemerken, wie *V. faba aquina* und *V. faba atropurpurea* sind. Das in diesem Experimente verwendete Rinderserum war schon über zwei Tage alt, worauf beruhte, daß der Gang der Reaktion langsamer war, als er gewesen wäre, falls das Serum ganz frisch gewesen wäre. Wenn das Experiment mit frischem Rinderserum wiederholt wurde, konnte man einen deutlicheren Unterschied zwischen diesen beiden so nahe verwandten Abarten konstatieren.

Zu gleicher Zeit wurde ein anderes Experiment gemacht, wobei das mit einer grünen Erbse immunisierte Serum eines Kaninchens verwendet wurde (Tabelle III, die Tuben 16—24). Die Extrakte waren in diesem Falle dieselben, aber jetzt erhalten wir eine kräftigere Reaktion mit der Erbse und deren Immunserum als mit der Pferdebohne und dem Immunserum der Erbse.

Der Extrakt *V. faba* I enthielt 8,75 Proz. Eiweiß

„	„	<i>V. faba</i> II	„	10,50	„	„
„	„	<i>Pisum sat.</i>	„	10,50	„	„

Das Immunserum eines normalen Kaninchens ergab keine Reaktion, wenn davon dieselben Mengen wie von dem Immunserum verwendet wurden.

Wir nehmen noch ein Beispiel mit einer Pferdebohne (*V. faba*) und einer zottigen Wicke (*Vicia villosa*). Aus der Tabelle IV (p. 366) sehen wir, daß in diesem Experimente die Immunsere der beiden Pflanzen verwendet worden sind. In diesem Experimente wirkte ein wenig störend, daß der Extrakt der Pferdebohne ungefähr dreimal kräftiger als der der zottigen Wicke war. (Der *V.-faba*-Extrakt enthielt 12,25 Proz., *V. villosa* nur 4,38 Proz. Eiweiß.) Es war andererseits wieder interessant zu beobachten, daß dessenungeachtet der *V.-villosa*-Extrakt + das *V.-villosa*-Immunserum eine deutlich kräftigere Zusammenballung verursachten als der *V.-faba*-Extrakt + das *V.-villosa*-Immunserum (die Tuben 9—14, Tabelle IV).

Tabelle IV.

Tube	Extrakt ccm	Immun- serum ccm	Aktiv. Rinder- serum ccm	Konglutinationsstärke nach			
				20'	30'	50'	60'
1	V. faba	V. faba					
2	1,0	0,12	0,4	++	++++	++++	++++
3	1,0	0,08	0,4	+	+++	+++	+++
4	1,0	0,04	0,4	—	+	++	++
5	1,0	0,02	0,4	—	—	+	+
6	1,0	0	0,4	—	—	—	—
7	V. villosa	V. faba					
8	1,0	0,12	0,4	—	+	++	++
9	1,0	0,08	0,4	—	—	—	+
10	1,0	0,04	0,4	—	—	—	—
11	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
12	1,0	0	0,4	—	—	—	—
13	V. villosa	V. villosa					
14	1,0	0,08	0,4	+	+++	++++	++++
15	1,0	0,04	0,4	—	+	++	++
16	1,0	0,02	0,4	—	—	—	+
17	0	0,12	0,4	—	—	—	—
18	0	0,08	0,4	—	—	—	—

Im folgenden Experimente (Tabelle V) wurde das mit englischem Rotkleesamenextrakt (*Trifolium pratense* I) immunisierte Serum eines Kaninchens verwendet. Wenn wir 0,04 ccm von diesem Immunserum verwendeten, so ergab *Medicago sativa* nach 2 Stunden keine Konglutination (die Tube 14, V), wogegen *Trifolium repens* (Tube 10) mit dieser Menge eine deutlich sichtbare Konglutinationszusammenballung ergab, die jedoch deutlich schwächer war und sich später als in den Tuben 2 und 6 (V) zeigte, in welchen der *Trifolium-pratense*-Eiweißextrakt vorhanden war. Tr. prat. I ergab eine kräftigere Konglutinationsreaktion als Tr. prat. II (vergl. die Tuben 2 und 3 mit den Tuben 6 und 7). Die Unterschiede waren nicht groß, aber man konnte sie jedoch deutlicher bemerken, wenn man den Gang der Reaktion beobachtete. Jene Abart ist ein frühzeitiger englischer, diese ein später finnischer Rotkleestamm. Der Eiweißgehalt wurde in diesen Extrakten nicht festgestellt, aber wenn das Experiment später wieder-

Tabelle V.

Tube	Extrakt ccm	Immun- serum ccm	Akt. Rinder- serum ccm	Konglutinationsstärke nach			
				20'	30'	60'	120'
1	Tr. prat. I 1,0	Tr. prat. I 0,12	0,4	++++	++++	++++	++++
2	1,0	0,04	0,4	—	+	++	+++
3	1,0	0,02	0,4	—	—	—	+
4	1,0	0	0,4	—	—	—	—
5	Tr. prat. II 1,0	0,12	0,4	++++	++++	++++	++++
6	1,0	0,04	0,4	—	—	++	+++
7	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
8	1,0	0	0,4	—	—	—	—
9	Tr. repens 1,0	0,12	0,4	+++	++++	++++	++++
10	1,0	0,04	0,4	—	—	+	++
11	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
12	1,0	0	0,4	—	—	—	—
13	Medicago sat. 1,0	0,12	0,4	++	+++	+++	+++
14	1,0	0,04	0,4	—	—	—	—
15	1,0	0,02	0,4	—	—	—	—
16	1,0	0	0,4	—	—	—	—
17	0	0,12	0,4	—	—	—	—

holt wurde, wobei die Lösungen gleichviel Eiweiß, 10,50 Proz., enthielten, kam man zu demselben Resultat. Positiv war das Resultat auch dann, wenn das Tr.-prat.-II-Immunserum verwendet wurde. In diesem Falle konnte man auch einen Unterschied zwischen den beiden erwähnten Rotkleestämmen machen.

Zusammenfassung.

Die angeführten Experimente zeigen, daß das Rinder-serum bei Gegenwart von Komplement mit der aus der Verbindung des Eiweißstoffes der Pflanzen und deren Immun-serum entstandenen Präzipitation eine Konglutationsreaktion auch dann bildet, wenn diese Präzipitation so schwach ist, daß man sie nicht mit bloßem Auge unterscheiden kann, und daß man mittelst der Konglutationsreaktion die Eiweiß-stoffe der verschiedenen Pflanzenarten und Ab-arten in vielen Fällen mit größerer Sicherheit

als mittelst der Präzipitation voneinander unterscheiden kann.

Zuletzt erlaube ich mir, meinen besten Dank dem Direktor des Institutes, Herrn Prof. Taav. Laitinen und Herrn Dr. Osv. Streng, der mich in meiner Arbeit mit vielen wertvollen Ratschlägen unterstützt hat, auszusprechen.

Literatur.

- 1) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 11.
- 2) Relander, L., Centralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 20.
- 3) Magnus und Friedenthal, Berichte der Deutschen Bot. Gesellschaft, Bd. 24, 1906, und Bd. 25, 1907.
- 4) Raubitschek, H., Wiener klin. Wochenschr., 1909.
- 5) Kowarski, Deutsche med. Wochenschr., 1901.
- 6) Gasis, D., Berliner klin. Wochenschr., 1908.
- 7) Wendelstadt und Fellmer, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Orig., Bd. 8, 1910.
- 8) Landsteiner und Stanković, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42.
- 9) Karasawa, M., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 5, 1910, Heft 5.
- 10) Bordet und Streng, Centralbl. f. Bakt. etc., Abt. I, Orig., Bd. 49, 1909.
- 11) Streng, Osv., Centralbl. f. Bakt. etc., Abt. I, Orig., Bd. 50, 1909.
- 12) Muir et Browning, Proceedings of the Royal Society, 1904.
- 13) Bordet u. Gay, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1906.
- 14) Sleeswijk, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1909.
- 15) Cohen, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1909.
- 16) Streng, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1908, 1909, 1910.
- 17) Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1910.
- 18) Jakobaeus, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1911.
- 19) Barikine, W., Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56, 1910.
- 20) Streng, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1910.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

XII.—XV. Mitteilung.

Beiträge zur Frage der Bildung des Anaphylatoxins aus Mikroorganismen.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. März 1911.)

I. Einleitung.

Von **E. Friedberger.**

In einem Nachtrag zu der VIII. Mitteilung über Anaphylaxie (diese Zeitschr., Bd. 7) und in No. 32 des vorigen Jahrganges der Berliner klinischen Wochenschrift berichtet Friedberger zum erstenmal über die Darstellung eines akut tödlichen Anaphylatoxins aus Bakterien. Es werden Versuche mitgeteilt, wonach aus den verschiedensten Mikroorganismen teils mit, teils ohne vorherige Beladung mit Immunambozeptor sich durch normales Meerschweinchenserum ¹⁾ ein Gift abspalten läßt, das die Tiere der gleichen Species akut unter den typischen Symptomen der Anaphylaxie tötet, und mit dem gleichen makroskopischen und mikroskopischen Lungenbefund, wie wir ihn bei den verschiedensten Todesursachen des Meerschweinchens, darunter auch so gut wie regelmäßig bei der Anaphylaxie, zu sehen gewohnt sind.

Ueber diese Versuche wurde dann weiter in der Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 42 und der Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50/51 sowie in der Deutschen med. Wochenschr., 1911, No. 11 berichtet (vergl. auch Diskussion, *ibid.*, No. 7—9).

1) Anm. bei der Korr.: Neuere Versuche in Gemeinschaft mit T. Ito haben ergeben, daß zur Giftabspaltung das gesamte Komplementserum erforderlich ist. Mit Mittelstück wurde nie, mit Endstück nur in vereinzelten Fällen (ungenügende Entfernung von Mittelstück) Anaphylatoxin erhalten.

In den nachstehenden 4 Mitteilungen sollen die dort kurz erwähnten Versuche und die Resultate weiterer Untersuchungen in dieser Frage ausführlicher veröffentlicht werden.

Unsere Ergebnisse lieferten, wie in den vorstehend zitierten Arbeiten des näheren auseinandergesetzt ist, einen experimentellen Beweis für die schon von anderen vermuteten Beziehungen zwischen Ueberempfindlichkeit und Infektion. Was speziell die Frage einer Giftbildung aus den eingeführten Bakterien erst innerhalb des Organismus anlangt, so hat wenigstens für die Fiebererzeugung wohl zuerst Krehl¹⁾ an derartige Verhältnisse gedacht. Er schrieb (Arch. f. exp. Pathol., Bd. 35, p. 233): „Und wer sagt uns, daß nicht bei der Lösung der Bakterienkörper im Organismus erst Substanzen gebildet werden können, welche thermisch besonders different sind.“

v. Pirquet²⁾ hat dann als erster auf Grund der Erfahrungen, die er beim Studium der Serumkrankheit gewonnen hat, Analogien zwischen diesem Phänomen und den bakteriellen Infektionen angenommen, indem er das Inkubationsstadium der Infektionskrankheiten auf Grund der bei der Serumkrankheit gewonnenen Resultate zu erklären suchte. Durch zahlreiche wertvolle klinische Beobachtungen hat der Autor damals seine Hypothese zu stützen versucht. Auch Wolff-Eisner³⁾ schloß auf Grund gewisser Analogien der Symptome hypothetisch auf einen Zusammenhang zwischen Infektion und Ueberempfindlichkeit.

Vaughan und Wheeler⁴⁾ konnten durch hydrolytische Spaltung in vitro, nämlich durch Behandlung von Eiweiß mit alkoholischer Kalilauge bei 70° sowohl aus amorphem Eiweiß als aus Bakterien eine giftige Substanz abspalten („toxophore Gruppe“), die anaphylaxieartige Symptome hervorrief. Da die Abspaltung, wie gesagt, sowohl aus Bakterien wie aus amorphem tierischen Eiweiß in gleicher Weise gelang, so schlossen sie daraus auf den Zusammenhang zwischen Eiweißüberempfindlichkeit und Infektion, indem sie rein hypothetisch annahmen, daß bei präparierten Tieren besondere Zymogene gebildet werden, die

1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 35.

2) „Die Serumkrankheit“, 1905.

3) Literatur s. Handb. d. Serumtherapie, 1910.

4) Diese Zeitschr., Bd. 1. — Journ. of Amer. med. Assoc., 1909.

dann bei der Reinjektion des Eiweißkörpers in aktive Fermente verwandelt werden. Durch diese Fermente werde das Eiweiß unter Bildung einer giftigen Substanz gespalten (Anaphylaxie) und wenn es als lebende Bakterien eingeführt ist, so werden diese dabei zugleich vernichtet (Immunität). Durch unsere Versuche über die Darstellung des Anaphylatoxins in vitro auch durch die bloße Einwirkung von Normalserum und aus gekochtem Antigen ist diese Hypothese als widerlegt zu betrachten.

Erst mit den Versuchen über aktive und passive Bakterienanaphylaxie, wie sie von Rist¹⁾, Axumit²⁾, Rosenau und Anderson³⁾, Kraus und Doerr⁴⁾, Kraus und Amiradzibi⁵⁾, Holobut^{5a)} u. a. ausgeführt worden sind, gelangen wir auf den festen Boden der Tatsachen. Da ja die Erzeugung der Anaphylaxie mit jeglichem Eiweißkörper gelingt und Bakterien im Grunde nichts anderes sind, als pflanzliches Eiweiß, so ist die Möglichkeit einer Erzeugung der Anaphylaxie mit den Bakterien nicht weiter verwunderlich, ja von vornherein selbstverständlich.

Immerhin ist die Auslösung der Bakterienanaphylaxie einer Reihe von Autoren nicht gelungen [Braun⁶⁾, Sobernheim⁷⁾ usw.] und namentlich bei der passiven Uebertragung ergaben sich im wesentlichen negative Resultate [Nachprüfungen der Angaben Yamanuchis⁸⁾]. Man darf aber bei den Versuchen über Bakterienanaphylaxie, wenn man positive Resultate erhalten will, sowohl bezüglich der Präparierung wie bezüglich der Reinjektion die quantitativen Verhältnisse nicht außer acht lassen, wie sie vor allem durch die grundlegenden Untersuchungen Doerr's⁹⁾ und seiner Schüler für die Eiweißanaphylaxie ermittelt sind und bei der Bakterienanaphylaxie natürlich in gleicher Weise Geltung beanspruchen

1) C. R. Soc. de Biol., T. 55, 1903.

2) Arch. f. Hyg., 1907.

3) Washington M. S. Public. Health Bull. No. 36, 1907.

4) Wiener klin. Wochenschr., 1908.

5) 5a) Diese Zeitschr., Bd. 4.

6) Folia serologica, 1909.

7) Diese Zeitschr., Bd. 5.

8) Wiener klin. Wochenschr., 1908.

9) Diese Zeitschr., Bd. 3.

müssen. Wenn wir zur aktiven Präparierung, um innerhalb eines gewissen Zeitraumes positive Resultate in 100 Proz. der Versuche zu erhalten, mit 0,01 g Serum gleich 0,001 g Eiweiß vorspritzen, und zur Reinjektion nach 14 Tagen etwa die gleiche Menge bedürfen oder meist noch mehr, so können wir vom Bakterieneiweiß a priori nichts anderes verlangen.

Gleichwohl hat man meist mit bedeutend kleineren Dosen sowohl bezüglich der Präparierung wie bezüglich der Reinjektion gearbeitet und aus diesem Grunde vielfach negative oder wechselnde Resultate erhalten. Denn was wir beim Eiweiß als eine minimale Menge betrachten, erscheint uns schon eine enorme Dosis bei Bakterien, weil wir ja sonst da mit unwägbaren minimalen Mengen zu rechnen gewohnt sind. Um aber nur 1 mg Eiweiß zu haben, bedarf es mehr als einer ganzen Agarkultur¹⁾.

Wenn man andererseits Versuche über Bakterienanaphylaxie auf die Infektionskrankheiten überträgt, so darf man vor allem nicht vergessen, daß man es bei einem natürlichen Infektionsprozeß, in dem eine fortwährende neue Zufuhr und ein weiterer Abbau von Bakterieneiweiß in den minimalsten Mengen statt hat, mit quantitativen Verhältnissen zu tun hat, die in keiner Weise den extremen Bedingungen des anaphylaktischen Laboratoriumsversuches entsprechen.

Deswegen waren auch die Versuche über aktive und passive Bakterienanaphylaxie, so interessant und wichtig sie an sich sind, nicht geeignet, uns Aufschluß zu geben über das wahre Wesen der Beziehungen zwischen Anaphylaxie und Infektion, weil wir ja zu den Versuchen Mengen von Infektionsstoff benötigen, wie sie unter natürlichen Verhältnissen zu einer gegebenen Zeit und an einem gegebenen Ort bei einer Infektion niemals zur Verfügung stehen.

1) Dem entsprechende Mengen sind nur selten in Anwendung gekommen und aus den negativen Resultaten, die auf ungenügende Mengenverhältnisse zurückzuführen sind, wurden dann falsche Schlüsse gezogen. Das tritt besonders hervor in den Versuchen von Seligmann (diese Zeitschr., Bd. 9), der mit ganz unzulänglichen Bakterienmengen gearbeitet hat, wenn er z. B. zur aktiven Präparierung das Antigen gab, das in einem (!) ccm Pneumoneserum enthalten ist. Auch in seinen Versuchen über passive Anaphylaxie sind die quantitativen Verhältnisse nicht berücksichtigt, so daß also die Folgerungen dieses Autors ohne jegliche Beweiskraft sind.

Und doch bestehen enge Beziehungen, die freilich wegen der kolossalen Differenz in quantitativer Beziehung nicht ohne weiteres ersichtlich sind.

Wegen dieses Mißverhältnisses habe ich an anderer Stelle (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 42) „die Bakterienanaphylaxie als eine extremere und akutere Form der Infektion, die Infektion als eine mildere protrahiertere Form der Anaphylaxie“ bezeichnet.

War diese Vorstellung richtig, so mußte es nicht nur gelingen, mit Bakterien das Symptomenbild der echten Anaphylaxie zu erzeugen, sondern auch mit nicht vermehrungsfähigen Eiweißkörpern das einer Infektion. Denn wenn, zum großen Teil wenigstens, „die charakteristischen Vergiftungen bei den Infektionskrankheiten wirklich nur dadurch entstehen, daß fortgesetzt aus parenteral im Organismus zirkulierendem Bakterieneiweiß Anaphylatoxin in kleinen Mengen abgespalten wird, so mußte es auch mit jedem anderen Eiweißkörper bei protrahierter parenteraler Zufuhr winziger Mengen gelingen, gewissermaßen künstliche Infektionskrankheiten zu erzeugen oder doch wenigstens in gewisser Beziehung Symptome, wie sie denen bei Infektionskrankheiten entsprechen“ (l. c.). Von dieser Voraussetzung ausgehend, ist es mir in Gemeinschaft mit Mita gelungen, durch fortgesetzte Injektionen minimaler Serummengen bei mit Eiweiß präparierten Tieren die verschiedensten Fiebertypen zu erzeugen und durch entsprechend größere Dosen auch bei Normaltieren. [Die fiebererregende Wirkung kleiner Eiweißdosen beim Normaltier ist zuerst näher von Krehl (l. c.) und Matthes¹⁾ studiert, neuerdings auch von Vaughan²⁾ bei fortgesetzter Eiweißzufuhr. F. Kraus³⁾ hat zuerst Vorgänge bei der Immunisierung mitverantwortlich gemacht.]

Wenn wir die Fieber erregenden Dosen und die zeitlichen Intervalle variieren und so eine fortgesetzte parenterale Eiweißzufuhr herbeiführen, wie sie während einer Infektion infolge der Vermehrung der Bakterien besteht, „so liegt es ganz in der Hand des Experimentators, ein intermittierendes

1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 38—40.

2) Journ. Americ. med. Assoc., 1909.

3) Von Noordens Handb., II. Aufl., p. 582.

oder ein remittierendes Fieber oder einen kritischen Temperatursturz zu einem gewissen Augenblick hervorzurufen“. Bereits auf der Naturforscherversammlung in Königsberg im vorigen Jahre habe ich zahlreiche derartige Kurven demonstriert, ich verweise ferner auf die Veröffentlichungen solcher Fieberkurven bei präparierten Tieren in der Deutschen med. Wochenschr., 1911, No. 11 (s. ferner Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 42; Münch. med. Wochenschr., 1910, l. c.).

Nun haben wir gesehen, daß bei der Eiweißanaphylaxie die Symptome bedingt werden durch das Entstehen eines giftigen Spaltproduktes im Organismus, dessen Bildung auch im Reagenzglas aus den gleichen Komponenten, wie sie im Körper in Aktion treten, gelingt. Es ist das von mir sogenannte „Anaphylatoxin“.

Schon Vaughan (l. c.) hat auf Grund der Tatsache, daß ihm sowohl aus tierischem Eiweiß wie aus Bakterien durch Behandlung mit alkoholischer Lauge die Abspaltung einer toxisch wirkenden giftigen Gruppe gelang, die Vermutung ausgesprochen, daß auch bei Infektionsprozessen sich ein ähnlich wirkendes Gift bildet. Das gleiche hat auf Grund unserer Versuche über die Darstellung des Anaphylatoxins aus Eiweiß Doerr¹⁾ vermutet.

Es ist uns (l. c.) nun tatsächlich die Darstellung des Anaphylatoxins aus Bakterien durch die Einwirkung von Normalserum oder Immunambozeptor plus Komplement gelungen. Auf Grund der Fieberversuche, in denen wir die verschiedensten Fiebertypen unter Verwendung eines einzigen Eiweißkörpers erzielen konnten, aus dem natürlich nur ein einheitliches Anaphylatoxin sich abspalten kann, kamen wir zu der Auffassung, daß auch das Bakterienanaphylatoxin bei der völlig identischen Wirkung des Giftes aus den verschiedensten Bakterien einheitlich und identisch sein könne mit dem Eiweißanaphylatoxin.

Das Bakterienanaphylatoxin bildet sich eben überall da, wo im Organismus Antikörper mit dem homologen Antigen zusammentreffen. Das ist der Fall bei den Infektionskrankheiten, nur daß hier natürlich unter gänzlich abweichenden quantitativen Verhältnissen nicht auf einmal eine tödliche

1) „Der gegenwärtige Stand der Lehre von der Anaphylaxie“. Diese Zeitschr., Ref., 1910.

Dosis Gift gebildet wird, andererseits auch wieder ein weiterer Abbau des giftigen Zwischenproduktes in die ungiftige Modifikation leichter statt hat, als im Reagenzglas. Die Verschiedenheiten und Mannigfaltigkeiten in dem Verlauf der einzelnen Infektionskrankheiten erklären sich, wie ich an den zitierten Stellen ausführlich dargetan habe, hinlänglich aus der Verschiedenheit des biologischen Verhaltens der einzelnen Mikroorganismenarten an sich und aus der Verschiedenheit ihrer Lokalisation.

Wir müssen bedenken, daß ja trotz der Mannigfaltigkeit im Verlauf der einzelnen Infektionskrankheiten die Hauptsymptome immer dieselben und identisch sind mit jenen, die wir durch kleine Eiweißmengen beim präparierten Tier und auch mit dem Anaphylatoxin in kleinen Dosen hervorrufen können.

Fieber, entzündliche Gewebsveränderungen und toxische Einwirkung auf das Zentralnervensystem, das sind ja die Kardinalsymptome aller Infektionen, im Grunde nur wenige Töne, aus denen durch die mannigfachsten Variationen die verschiedenartigsten Melodien entstehen.

Die Spezifität bei einer Infektion braucht also nicht in dem Freiwerden besonderer differenter Bakteriengifte aus den einzelnen Mikroorganismenarten zu beruhen, sondern spezifisch ist nur der Modus der Giftbildung. Das gilt sowohl für die Infektion wie für die Immunität. Nur dann kann im Organismus eine tödliche Giftdosis abgespalten werden, wenn der homologe Antikörper vermehrt ist, wie das während des Infektionsprozesses der Fall ist. Und unter gleichen Bedingungen können in einen immunisierten Organismus eingedrungene Bakterien, noch ehe sich eine krankmachende Dosis von Anaphylatoxin aus ihnen bilden konnte, vernichtet werden.

Wir haben in den seither veröffentlichten Arbeiten mitgeteilt, daß wir ein Anaphylatoxin aus den verschiedensten Bakterien, sowohl parasitischen wie saprophytischen, gewinnen können und auch aus anderen Mikroorganismenarten; das ist nicht weiter verwunderlich, da ja die Giftbildung auch aus artfremden tierischen Zellen gelingt.

Die Giftigkeit des unter der Einwirkung von Serum gebildeten Anaphylatoxins ist eine ganz enorme im Vergleich

zu der Toxizität der Bakterienleibessubstanzen, wie wir weiter unten noch ausführlich auseinandersetzen werden.

Unsere seinerzeit vorläufig mitgeteilten Befunde haben bereits eine Bestätigung von verschiedenen Seiten erfahren.

Schon auf der Naturforscherversammlung in Königsberg konnte Neufeld berichten, daß es ihm gelungen ist, das von uns kurz zuvor dargestellte Bakteriengift gleichfalls zu erhalten. In einer späteren Publikation mit Dold ¹⁾ hat er seine Versuche ausführlich veröffentlicht. Die Autoren bestätigen unsere Angaben über die leichte Bildung des Giftes im Reagenzglas aus verschiedenen Bakterienarten und kommen gleichfalls zu dem Resultat, daß die Giftabspaltung allein unter Einwirkung von aktivem, normalem Meerschweinchenserum gelingt, und daß das Gift im Gegensatz zu den Endotoxinen, also der Leibes- substanz der Bakterien, thermolabil ist. Auch bestätigen sie durch sorgfältige Untersuchungen am Choleravibrio und Pneumococcus die bereits durch die Versuche am Tuberkel- bacillus von uns erwiesene Tatsache, daß die Bakteriolyse für die Bildung des Anaphylatoxins nicht erforderlich ist.

Ja, Neufeld und Dold glauben sogar, daß die Lyse der Giftgewinnung hinderlich ist, und daß der anaphylaktische Antikörper nicht mit dem bakteriolytischen Ambozeptor identisch ist, weil es bei Pneumokokken (wie in unseren Versuchen am Tuberkelbacillus) zwar Giftabspaltung, aber keine Bakteriolyse gäbe.

Entsprechend dem von mir wiederholt betonten unitarischen Stand- punkt glaube ich nicht, daß man verschiedene Antikörper anzunehmen braucht, sondern daß man sich vorstellen kann, daß der einheitliche Anti- körper unter bestimmten Versuchsbedingungen den Choleravibrio über das Anaphylatoxin hinaus zur Auflösung bringt, während es bei dem Pneumo- coccus nur zur Giftabspaltung kommt, ohne daß das Bakterium selbst sicht- bare morphologische Veränderungen erfährt. Jedenfalls aber zeigen unsere Beobachtungen am Tuberkelbacillus und die von Neufeld und Dold am Pneumococcus, daß es sich bei dem Anaphylatoxin nicht um ein Gift handelt, das durch Lyse aus den Leibern der Bak- terien erst in Freiheit gesetzt werden muß.

Neufeld und Dold schließen sich dann des weiteren meiner Auffassung an, daß das aus den verschiedenen Bak-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 2.

terien gebildete Gift einheitlich ist (oder doch „die einzelnen Gifte einander sehr nahestehen“). Sie glauben mit uns, daß die Verschiedenheiten in den einzelnen Krankheitsbildern mehr durch Differenzen ihres biologischen Verhaltens¹⁾ und ihrer Lokalisation bedingt sind.

Auch R. Kraus²⁾ hat nach unseren Angaben das akut wirkende Gift aus Bakterien (Typhus) zu gewinnen versucht. Er hatte gleichfalls positive Resultate. Daß etwas größere Mengen Bakterien als Ausgangsmaterial für die Giftdarstellung nötig waren, ist kein prinzipieller Unterschied und dürfte wohl auf die besonderen Bedingungen für die Giftbildung bei der von ihm gewählten Versuchsanordnung zurückzuführen sein.

Obwohl das Gift unter den gleichen Bedingungen entsteht wie das Anaphylatoxin aus Eiweiß und Symptome hervorruft, die absolut identisch sind mit denjenigen bei der Eiweiß-anaphylatoxinvergiftung, so ist das Bakteriengift nach diesem Autor doch nicht als ein Anaphylatoxin anzusehen, weil ich „nicht zu entscheiden versucht habe, ob der Tod infolge von Bronchospasmus erfolgt ist“.

Da hat Kraus allerdings offenbar übersehen, daß bereits in der VIII. Mitteilung über Anaphylaxie (Friedberger und Vallardi)³⁾ eine Reihe von Tieren angeführt sind, die an Bakterienanaphylatoxinvergiftung eingegangen waren und den typischen Lungenbefund zeigten.

Die künstliche Atmung nach dem Aussetzen der Respiration zu versuchen, wie das Kraus später verlangte, haben wir aber nicht mehr für nötig gehalten, nachdem wir früher gezeigt haben, was auch neuerdings Graetz⁴⁾ hervorhebt, daß das kein Kriterium ist, dem irgendeine Bedeutung zuzumessen wäre. [Das gleiche gilt von dem neuesten Kriterium von Kraus, dem Farbenunterschied des dem anaphylaktischen Tier entnommenen Serums. Es soll bei der echten Anaphylaxie farblos, bei dem Tod durch primäre Antiserumanaphylaxie (Friedberger und Castelli) rötlich gefärbt sein. Das ist un-

1) Dazu gehört auch ihre verschiedene Abbaufähigkeit (vergl. die nachstehende Arbeit Friedberger und Szymanowski).

2) Diese Zeitschr., Bd. 8, Heft 3.

3) Ibid., Bd. 7, Heft 1/2.

4) Ibid., Bd. 8.

richtig. Bereits Sleeswijk¹⁾ hat gerade den Hämoglobingehalt des Serums als ein Charakteristikum bei der aktiven Anaphylaxie beschrieben, und Friedberger und Hartoch²⁾ haben dies bald darauf bestätigt.]

Kraus erhebt dann den weiteren Einwand, daß die Giftbildung im Gegensatz zur aktiven Bakterienanaphylaxie nicht spezifisch sei, weil die Giftabspaltung aus Typhusbakterien nicht nur durch Typhusimmunserum, sondern auch durch Choleraimmunserum und schließlich auch durch Normalserum gelinge. Das letztere habe ich allerdings bereits selbst früher gezeigt (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32). Aber man kann deshalb doch nicht die Spezifität des Vorganges leugnen, ebenso wenig wie einer die Spezifität der Agglutination leugnen wird, weil Normalpferdeserum, das an sich einen hohen Bakterienantikörpergehalt hat, Cholera- und Typhusbakterien noch über 100-fache Verdünnung hinaus agglutiniert. Auf diese normalen Antikörper, an denen ja besonders das Pferdeserum so reich ist, ist es zurückzuführen, daß in seinen Versuchen scheinbar keine Spezifität hervortrat. Beweisend aber sind diese Versuche in keiner Richtung, da nicht einmal versucht worden ist, durch vorherige Absorption mit homologen Bakterien die betreffenden Normalantikörper zu entfernen.

Wenn dann Kraus die Extrakte mit Ambozeptoren allein giftig fand, so steht das im strikten Gegensatz zu meinen früheren Befunden, zu den Befunden von Neufeld und zu den zahlreichen neueren Beobachtungen, die in den nachstehenden Arbeiten niedergelegt sind.

Bei Mangel an näheren Angaben über diese Versuche von Kraus vermögen wir uns keine Erklärung für diese abweichenden Resultate zu geben. Wir möchten aber vermuten, daß bei den Versuchen, bei denen offenbar die Bakterien mit Immunserum ohne Komplement digeriert wurden, vielleicht die primäre Giftigkeit des verwandten Immunserums allein für den Ausgang verantwortlich zu machen ist oder die Inaktivierung nur eine ungenügende war. Denn wir haben gefunden, daß es einer sorgfältigen Inaktivierung bei 56—58 Grad bedarf, da bei ungenügender Inaktivierung unter sonst günstigen

1) Diese Zeitschr., Bd. 2.

2) Ibid., Bd. 3.

Versuchsbedingungen eine Giftabspaltung aus noch nicht zerstörtem Komplement erfolgen kann.

So werden vielleicht auch die Angaben von Kruse¹⁾ verständlich, der wiederum unsere Angaben bestätigte, aber auch behauptet, gleichfalls bei Verwendung von inaktiviertem Normalmeerschweinchenserum „einige Male“ eine Giftabspaltung gesehen zu haben. Diese Angabe widerspricht den Resultaten unserer zahlreichen Versuche und denen Neufelds.

Schließlich sei noch erwähnt, daß auch im Laboratorium von Besredka Dewitzki²⁾ in einem Fall das akut wirkende Gift aus Bakterien erhalten hat, in einem zweiten Versuch allerdings nicht.

Der Autor hebt mit Recht hervor, daß wir über die Natur des Giftes nicht allzuviel wissen, „il est impossible de la considérer comme un poison nettement déterminé“. Es ist das eine Eigenschaft, die dieses Gift freilich mit allen Antigenen und allen Antikörpern teilt.

In den nachstehenden Arbeiten bringen wir die ausführlichen Ergebnisse der in der Berliner klinischen Wochenschrift vorläufig mitgeteilten Versuche und die Resultate neuer Experimente über die Anaphylatoxindarstellung aus Bakterien. Zu den damaligen Versuchen mit *Bacterium Typhi*, *Bacterium Tuberculosis*, *Bacillus Prodigiosus* und *Vibrio Metschnikoff* sind noch hinzugekommen die Versuche über die Giftdarstellung aus Staphylokokken (Friedberger und Szymanowski), aus Diphtheriebacillen und Dysenteriebacillen (Friedberger und Reiter), Trypanosomen (Friedberger und Szymanowski [Veröffentlichung erfolgt später]), endlich noch die Versuche über ein akut wirkendes Gift aus Tetanustoxin (Friedberger und Mita). Auf Grund dieser Versuche mit den verschiedensten Mikroorganismenarten dürfte es wohl heute bereits feststehen, daß die Giftdarstellung, geeignete Mengenverhältnisse vorausgesetzt, aus allen Mikroorganismen gelingt. Unsere weiteren Untersuchungen, über die in den folgenden Arbeiten berichtet wird, erstrecken sich deshalb in erster Linie darauf, die näheren Bedingungen der Giftbildung kennen zu lernen.

1) Allgemeine Mikrobiologie, Leipzig 1910, p. 1119.

2) Compt. rend. Soc. Biol., 1911, No. 4.

Wir haben bereits früher erörtert, daß die Giftigkeit des unter dem Einfluß von Komplement gebildeten Anaphylatoxin mit der Toxizität des Ausgangsmaterials in gar keinem quantitativen Verhältnis steht.

Das tritt auch bei den Versuchen in diesen Arbeiten klar hervor. Wir sehen z. B., daß eine halbe Schrägagarkultur mit Chloroform abgetöteter Bakterien erst nach 32 Stunden tötet, während sich aus einer Oese bereits eine innerhalb weniger Minuten akut tödliche Giftdosis abspalten läßt.

Noch eklatanter werden die Verhältnisse, wenn man die akut tödliche Dosis von Bakterienleibern einerseits mit derjenigen Menge von Bakterien vergleicht, die zur Abspaltung einer tödlichen Anaphylatoxindosis ausreichen.

Nach Untersuchungen von Mita und mir sind etwa 0,25 g Kulturmasse von Schrägagarkultur notwendig, um ein normales Meerschweinchen akut zu töten, während sich aus über 100mal weniger Bakterien durch die einfache Einwirkung von Normalmeerschweinchenserum eine akut tödliche Giftdosis abspalten läßt.

Analog liegen die Verhältnisse beim Tuberkelbacillus. Dabei muß man aber bedenken, daß gerade beim Tuberkelbacillus auch nicht eine Spur von Lyse der geringen Bakterienmengen, die die Muttersubstanz des Giftes bilden, statt hat. Zudem werden ja die Bakterien vor der Einspritzung durch Zentrifugieren entfernt, und die gewaschenen Bodensätze derartiger Bakterien zeigen keine akute giftige Wirkung.

Unser Anaphylatoxin ist thermolabil, während die Muttersubstanz des Giftes, also die Bakterienleiber, thermostabil sind. Ja, sowohl die Versuche am *Prodigiosus* wie am Tuberkelbacillus und *Vibrio Metschnikoff* lassen es deutlich erkennen, daß aus gekochten Bakterien die Giftabspaltung sogar noch leichter gelingt, als aus lebenden.

Welcher Art ist nun diese Giftabspaltung aus Bakterien? Wahrscheinlich handelt es sich, wie ich schon früher hervorgehoben habe, hier wie bei der Anaphylatoxinabspaltung aus Eiweiß um einen chemischen Vorgang.

Denn auch mit dem aus Bakterien gewonnenen anaphylatoxinhaltigen Serum konnten Mita und

ich¹⁾ ebenso wie mit dem Anaphylatoxin aus Eiweiß die positive Biuretreaktion erhalten, die in den Kontrollen mit inaktiviertem Meerschweinchenserum regelmäßig fehlte.

Eine Reihe von Autoren (Fuld u. a.)²⁾ haben sich gegen die von uns vertretene Anschauung gewandt, daß bei der Giftabspaltung das Antigen es sei, das unter dem Einfluß des Antikörper-Komplementkomplexes abgebaut wird.

Sie erhoben den an sich ja diskutablen Einwand, daß es ebensogut umgekehrt sein könne. Dagegen aber sprechen unserer Auffassung nach doch unzweideutig die Versuche, in denen wir das Gift aus gekochtem Antigen (Pferdeserum, Bakterien) abzuspalten vermochten. Durch die Temperatur von 100°³⁾ wird ein eventuell in den Bakterien wirksames Ferment doch mit Sicherheit zerstört, und die Versuche ergeben tatsächlich, daß das fermentative Prinzip ausschließlich im Ambozeptorkomplementkomplex liegt und aus den Bakterien das Gift in Freiheit setzt⁴⁾.

Nun haben schon die quantitativen Untersuchungen von Friedberger und Vallardi über die Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß und unsere Versuche mit Mita über das Auftreten von Reaktionsprodukten, die im anaphylatoxinhaltigen Serum die positive Biuretreaktion geben, gezeigt, daß es sich bei dem Anaphylatoxin wahrscheinlich um ein giftiges intermediäres Produkt handelt, das seinerseits wieder weiter in ungiftige Spaltprodukte zerlegt wird⁵⁾. [Vergl. auch unsere Versuche über den Peptonabbau¹⁾.]

In den nachstehenden Arbeiten bringen wir die ausführliche Darstellung von Versuchen, in denen wir durch Variation der für die Anaphylatoxinbildung in Betracht kommen-

1) Vergl. Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 8, Vereinsbeilage.

2) Ibid.

3) Neuerdings haben wir Giftabspaltung aus Dysenteriebacillen erzielt, die $\frac{1}{2}$ Stunde in Kochsalzlösung aufgeschwemmt bei 120° im Autoklaven gehalten waren.

4) Anm. bei der Korr.: M. Wassermann und Keysser zitieren die Einwendungen von Fuld. Meine an gleicher Stelle vorgebrachten Gegenargumente scheinen ihnen entgangen zu sein.

5) Anm. bei der Korr.: M. Wassermann und Keysser teilen diese Annahme, offenbar in Unkenntnis der zitierten Publikation und der weiteren Veröffentlichungen über diese Frage, speziell für die Bakterienanaphylaxie (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32, 1911, No. 9; Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50/51; Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 9 [Vereinsbeilage], 11) als neu mit.

den Faktoren zeigen, daß analoge Verhältnisse auch für das Bakterienanaphylatoxin bestehen; wie wir das bereits in den vorzitierten Arbeiten ausgesprochen haben.

Wenn es sich hier so verhält wie bei der Eiweißanaphylaxie, daß ein an sich ungiftiger oder relativ ungiftiger Eiweißkörper über enorm toxische Produkte hinaus in wieder ungiftige niederere Spaltprodukte abgebaut wird, so mußte das bei Variierung der für die Giftbildung in Betracht kommenden Faktoren in mannigfacher Weise hervortreten. Wir mußten erwarten, daß bei Einwirkung einer konstanten Immunserum- und Komplementmenge auf eine zu große Menge von Bakterien die Giftbildung ausblieb, weil sich alsdann Antikörper und Komplement auf zuviel Antigen verteilen und dieses nicht einmal bis zur giftigen Stufe abbauen.

Bei einer Vermehrung der Immunserum- und Komplementmenge mußte auch unter solchen Verhältnissen eine Giftbildung gelingen.

Wenn wir aber bei einer konstanten Antigenmenge die Antikörperdosen variierten, so mußte zu einer gewissen Zeit bei Antikörperüberschuß die Abspaltung bereits über das giftige Zwischenprodukt hinaus erfolgt sein, und ein ungiftiger Abguß resultieren, während andererseits bei einer frühzeitig vorgenommenen Prüfung noch die giftige Zwischenstufe abgefangen werden konnte. Ebenso mußte bei 37° und aus den leichter abspaltbaren gekochten Bakterien die Giftbildung früher und leichter erfolgen als bei Eisschranktemperatur und aus rohen Bakterien.

Die in den nachstehenden Arbeiten ausgeführten Versuche lassen sich nun tatsächlich vollkommen mit unserer Annahme vereinigen, daß es sich auch bei der Anaphylatoxinbildung aus Bakterien um den Abbau an sich relativ ungiftiger Eiweißkomplexe über ein hoch toxisches Zwischenprodukt hinaus in wiederum ungiftige niedere Spaltprodukte handelt.

Bezüglich der Einzelheiten sei auf die nachstehenden vier Veröffentlichungen verwiesen.

Hier sei nur kurz noch einmal die Bedeutung erörtert, die unsere Ergebnisse für die Auffassung bakterieller In-

fektionen und vor allem für die Immunität — speziell für die Wirkung bakterieller Heilsera haben.

An sich besteht ja ein großer Unterschied in der Wirkung zwischen dem akut tötenden Anaphylatoxin und der schleichen- den Wirkung des Giftes bei der Mehrzahl der bakteriellen Infektionen.

Wir dürfen aber nicht vergessen, daß im Organismus die Verhältnisse doch insofern ganz anders liegen als im Glas, als wir unter gewöhnlichen Verhältnissen nie zu einer gegebenen Zeit an einem gegebenen Ort Mengen von Antigen zur Verfügung haben, wie sie denen entsprechen, aus denen wir im Reagenzglas das Gift darstellen.

Bei einer Infektion geschieht die Bakterienvermehrung und Antikörperneubildung ganz allmählich, und Hand in Hand damit geht eine Bakterienvernichtung mit partiellem Verbrauch der Antikörper mit konsekutiver Antianaphylaxie, sowie einem Verbrauch und eine Regeneration des Komplementes.

Indem alle diese Faktoren miteinander interferieren, ist naturgemäß der Abbau des Bakterieneiweißes bis zum Anaphylatoxin und über dieses hinaus ein sehr protrahierter und auch bezüglich der Intensität weitgehenden Schwankungen unterworfen. So ist es ohne weiteres verständlich, daß die Wirkung des aus Bakterien, z. B. aus den Tuberkelbacillen, im Verlauf einer langen Infektion sich gradatim in kleinen Dosen entwickelnden Giftes¹⁾ (bei dem wegen des weitergehenden Abbaues nur unter besonderen Verhältnissen eine Kumulation erfolgen kann) eine ganz andere ist, als wenn auf einmal dasselbe Gift, im Reagenzglas gebildet (Friedberger und Goldschmid, Schütze), in einer tödlichen Dosis in die Blutbahn gelangt.

So liefert uns der Reagenzglasversuch gewissermaßen in höherer Konzentration die Gifte, die, in geringen Mengen unter dem Einfluß der Antistoffe allmählich sich bildend und unter

1) In größeren Dosen tritt es nur auf (Nachweis durch die Fieberreaktion), wenn Antigen, z. B. Tuberkulin, in größeren Mengen in einen Körper eingeführt wird. Dann wird das Tuberkulin selbst zu Anaphylatoxin abgebaut oder es ruft eine beschleunigte Neubildung von Antikörpern hervor, die das im Körper vorhandene Antigen angreifen.

dem gleichen Einfluß wieder verschwindend, die wesentlichen Symptome bakterieller Infektion bedingen.

Und auch über den Mechanismus der Heilung und der Wirkung antibakterieller Heilsera sowie deren Indikation geben unsere Versuche Aufschlüsse.

In allen den nachstehenden Arbeiten sehen wir bei den verschiedensten Bakterienarten mit absoluter Gleichmäßigkeit die Tatsache wiederkehren, daß ein Ueberschuß von Immunsérum im Reagenzglas kein Gift liefert.

Da das auch nicht der Fall ist, wenn beladene und durch sorgfältiges Waschen von den letzten Resten von Immunsérum befreite Bakterien verwandt werden, so kann eine Komplementablenkung im Sinne von Neisser, Wechsberg nicht die Ursache sein ¹⁾.

Schon vor über einem Jahr habe ich ²⁾ bei meinen Versuchen über das Anaphylatoxin aus Eiweiß angenommen, daß ein weiterer Abbau des Giftes zu ungiftigen Spaltprodukten statt hat; zu diesem Schluß ist für die Bakterien auch R. Pfeiffer in seiner Arbeit mit Bessau ³⁾ gelangt, und die Autoren betonen deshalb mit Recht von neuem, daß auch den antibakteriellen Seris eine Heilkraft unbedingt zukommt, ein Standpunkt, den R. Pfeiffer ja immer vertreten hat.

Gerade in dieser Frage bestand lange auf Grund falscher theoretischer Anschauungen die völlig irrige Vorstellung, daß derartige Sera wegen der Freimachung von Endotoxinen bei fortgeschritteneren Infektionen kontraindiziert seien.

Auch unsere Reagenzglasversuche bestätigen zur Evidenz die Tatsache, daß größere Mengen von antibakteriellen Seris die Giftbildung aus Bakterien zwar nicht verhüten, aber doch sehr schnell das Gift in ungiftige Modifikationen überführen.

Den Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung liefern unsere Versuche mit „Variierung der Zeit“, die ergeben, daß

1) Anm. bei der Korr.: Das habe ich in der Diskussion (Verein für Innere Med., 23. I. 1911. — Deutsche med. Wochenschr., No. 9, Vereinsbeilage) gegenüber Citron bereits betont.

2) Mediz. Klinik, 1910, No. 13.

3) Centralbl. f. Bakt., Orig., 1910.

proportional der Antikörpermenge die Giftbildung früher einsetzt und das Gift früher wieder verschwindet ¹⁾).

Im Reagenzglas entsteht das Anaphylatoxin, wie ich wiederholt betont habe, aus denselben Komponenten, die auch bei der aktiven Anaphylaxie miteinander in Aktion treten und unter denselben Bedingungen. Auch die Symptome, die es hervorruft, sind die gleichen.

Es liegt so kein Grund vor, das Reagenzglasgift als ein Kunstprodukt anzusehen, das sich unter natürlichen Bedingungen im Organismus nicht zu bilden vermag. Gleichwohl erachte ich es als Stütze unserer Auffassung für wesentlich, daß die folgenden Versuche mit Nathan (XV. Mitteilung) den Nachweis erbracht haben, daß sich dieses Gift auch im Tierkörper bildet. Bezüglich der quantitativen

1) Wenn ein Ueberschuß von Immunserum in vitro und passiv zugeführt auch im Organismus (Friedberger und Nathan, XV. Mitteilung) entgiftet, so müssen wir entsprechende Verhältnisse auch beim hochgradig aktiv immunisierten Tier annehmen, so daß wir die Anaphylaxie — wie das schon Richet betont hat — nur als eine Vorstufe der Immunität zu betrachten hätten.

Von diesen Voraussetzungen ausgehend haben wir, um eine echte Eiweißimmunität zu erzielen, Meerschweinchen fortgesetzt längere Zeit hindurch mit möglichst großen Mengen Eiweiß behandelt. Da das Eiweiß bei wiederholter parenteraler Zufuhr, auch wenn akute Anaphylaxie ausbleibt, bekanntlich schlecht vertragen wird (Hautnekrosen usw.), so gelang es uns, nur eine geringe Anzahl von Tieren länger am Leben zu erhalten.

Diese waren zu einer Zeit, zu der eine Antianaphylaxie von der letzten Antigenezufuhr nicht mehr bestehen konnte, bedeutend unempfindlicher gegenüber der Reinjektion als weniger intensiv präparierte Kontrollen.

Wir gehen also vielleicht nicht fehl mit der Annahme, daß auch gegen Eiweiß tatsächlich eine echte Immunität jenseits des anaphylaktischen Stadiums — wenn auch nur sehr schwer — zu erzielen ist.

Diese Eiweißimmunität hat natürlich zunächst äußerlich nichts zu tun mit der gewöhnlichen antibakteriellen Immunität, die streng genommen nur eine besondere Form der Anaphylaxie gegenüber vermehrungsfähigem, als Lebewesen organisiertem Eiweiß ist. Ein Analogon wäre die Immunität gegen *Multipha* der tödlichen Dosis von Bakterien eiweiß.

Es ist aber ohne weiteres klar, daß es sich hier nur um quantitative, nicht um qualitative Unterschiede handelt, nur um durch die Mengenverhältnisse des Antikörpers bedingte verschiedene Erscheinungsformen.

Einmal genügen die Antikörpermengen nur, um Gift frei zu machen, das andere Mal vermögen sie genügend schnell — ohne daß der Organismus gefährdet wird — das Gift weiter abzubauen.

Verhältnisse der einzelnen Komponenten zeigt sich hier die gleiche strenge Gesetzmäßigkeit, wie wir sie beim Vitrophänomen haben; namentlich beobachten wir auch hier die schnellere Giftbildung und die beschleunigte Entgiftung unter dem Einfluß von Immunserumüberschuß.

Gerade diese Versuche gestatten uns die Uebertragung unserer Ergebnisse im Reagenzglasversuch auf die Vorgänge bei der Infektion und Heilung speziell bei der Wirkung antibakterieller Sera.

Zur Technik, deren wir uns in den nachstehenden Arbeiten bedienten, sei ganz allgemein, soweit nicht die Protokolle im einzelnen Abweichungen ergeben, das Folgende bemerkt.

Die Darstellung des Anaphylatoxins geschah so, daß die Bakterien zum Teil vorher in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann abzentrifugiert mit dem Immunserum meist 18 bis 24 Stunden in Kontakt gelassen wurden; danach wurde in den meisten Versuchen zentrifugiert und der Bodensatz der beladenen Bakterien mit reichlichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Das geschah, wie schon erwähnt, um Ueberschüsse von Ambozeptorserum zu entfernen und damit bei dem nachherigen Komplementzusatz eine Komplementablenkung zu verhüten. Die beladenen und gewaschenen Bakterien wurden nun mit normalem Meerschweinchenserum versetzt (in der Regel 4 ccm). Nach weiterem 24-stündigen Aufenthalt im Eisschrank oder bei Zimmertemperatur im Dunkeln wurde zentrifugiert und der Abguß normalen Meerschweinchen intravenös injiziert.

In einer großen Zahl von Versuchen verzichteten wir auf eine vorherige Beladung der Bakterien mit Immunambozeptoren und digerierten von vornherein mit normalem Meerschweinchenserum. Soweit innerhalb einer Versuchsreihe neben diesen Versuchen solche mit beladenen Bakterien angestellt wurden, wurden die Bakterien während der Zeit der Beladung der übrigen Röhrchen mit Immunambozeptor mit Kochsalzlösung unter den gleichen Bedingungen gehalten.

Die Injektion der Meerschweinchenserumabgüsse erfolgte stetig aber langsam in die freigelegte Vena jugularis, durchgehend bei Tieren, deren Gewicht ca. 200 g betrug; es ist das ein Modus, bei dem wir niemals in unseren zahlreichen

Versuchen Störungen durch das artgleiche Serum allein in den in Frage kommenden Mengen beim normalen Meerschweinchen gesehen haben. Wir haben allerdings darauf geachtet, als Komplementlieferanten gesunde, nicht vorher gebrauchte Tiere zu verwenden, die möglichst nicht schwanger oder kurz vorher entbunden waren (meist Böcke). Das Körpergewicht der Komplementlieferanten überstieg dabei tunlichst nicht 500 g.

Innerhalb der einzelnen Versuchsreihen wurde, wie schon früher hervorgehoben¹⁾, stets die gleiche Komplementmischung benutzt.

Daß dabei das Komplementserum an sich, wie gesagt, nicht toxisch wirkte und auch während der mannigfachen Prozeduren nicht sekundärtoxisch wurde, beweisen innerhalb jeder Versuchsreihe die zahlreichen Einzelversuche, in denen gleiche Dosen des gleichen Komplementserums nicht toxisch wirkten, sofern die damit in Kontakt gewesenen Antigen- und Antikörpermengen für die Giftbildung ungünstig waren.

Vor allem war eine sekundäre Verunreinigung durch Bakterien zu befürchten (namentlich in den ersten Versuchen von Friedberger und Goldschmid, die in den Sommermonaten des Jahres 1910 angestellt waren; deshalb wurden damals alle Prozeduren bei Eisschranktemperatur ausgeführt).

Wir haben durch möglichste Vorsicht diese Gefahr zu vermeiden gesucht, doch sind natürlich bei der relativ langen Dauer der Versuche nicht selten geringe Verunreinigungen vorgekommen.

Daß diese nicht falsche Resultate bedingt haben, ergibt sich aus folgendem.

1) Die gleichen Verunreinigungen (qualitativ und quantitativ) fanden sich auch in denjenigen Röhrchen, die wegen ungeeigneter Mengenverhältnisse von Antigen und Antikörper völlig atoxische Abgüsse lieferten.

Ja wir haben öfter gesehen, daß aus Röhrchen, in denen keine oder nur sehr spärliche Keime vorhanden waren, ein intensives Gift resultierte, während auch bei relativ stärkerer Verunreinigung der Abguß ungiftig war, sofern das Mengenverhältnis von Antigen und Antikörper das bedingte.

1) Friedberger und Schütze, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 9.

2) Die Bakterienmengen, die zur Abspaltung einer Giftdosis genügen, sind ja an sich relativ gering (siehe die untenstehenden Versuche), aber doch weit größer als die, die selbst in den günstigsten Fällen sekundär in die Röhrchen gelangt waren.

3) In zahlreichen früheren Versuchen mit Eiweiß und den nachstehenden mit Bakterien sehen wir bereits tödliche Giftdosen gebildet zu einer Zeit, zu der eine Verunreinigung ausgeschlossen ist, während zu der Zeit, die für die Entwicklung von Verunreinigungskeimen günstig war, die Giftigkeit bereits wieder geschwunden war.

4) Wenn irgendwelche giftigen Stoffwechselprodukte der sekundären Bakterien selbst die Symptome bewirkten, dann hätten die Abgüsse mit 56° Meerschweinchenserum besonders giftig sein müssen, da hier Bakterien noch leichter zur Entwicklung kommen konnten. Sie waren aber ausnahmslos unwirksam.

Wir haben, um nicht zuviel Raum für die folgenden Arbeiten in Anspruch zu nehmen, uns darauf beschränkt, in den Protokollen die Symptome möglichst kurz zu charakterisieren. Wir rechnen nur diejenigen Fälle als Anaphylaxie, in denen unter unverkennbaren Symptomen der Tod in wenigen Minuten eintritt oder doch unmittelbar nach der Injektion die charakteristischen Symptome charakteristisch in der ganzen Schwere zu verzeichnen sind.

Mit wenigen Ausnahmen wurde sofort nach dem Tod die Obduktion vorgenommen. Wir sehen regelmäßig die Blähung der — wie auch bei der Eiweißanaphylaxie — wechselnd injizierten Lunge. In einer Reihe von Fällen haben wir die Lungen mikroskopisch untersucht. Die Bilder sind die gleichen wie bei der Eiweißanaphylaxie. Stets schlug das Herz noch, in keinem Fall war nach 10 Minuten das Blut geronnen. Wegen der Konstanz dieser Befunde haben wir hier von einer jedesmaligen Erwähnung, wie in früheren Arbeiten, abgesehen.

Als Hauptergebnis der nachstehenden Arbeiten, die durch weitere später zu veröffentlichende Befunde noch ergänzt werden, möchten wir folgendes bezeichnen: Es gelingt aus den differentesten Bakterienarten ein akut tödliches Anaphylatoxin abzuspalten. Die optimalen Bedingungen sind für verschiedene Bakterienarten und Sera verschieden und liegen meist in sehr engen Grenzen, die durch exakte quantitative Versuche festzulegen sind. Wenn man die Grenzen er-

mittelt hat, so kann man wie bei der aktiven Anaphylaxie bis zu 100 Proz. positive Resultate erhalten, ebenso gut wie jenseits dieser Grenzen in allen Fällen negative Resultate erzielt werden.

Nachtrag bei der Korrektur.

Auch M. Wassermann und Keysser bestätigen in einer soeben aus der von Wassermannschen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten hervorgegangenen Arbeit¹⁾ unsere Angaben über die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien. Sie erhielten speziell „aus zerriebenen Tuberkelbacillen, säurefesten und feuchten Bacillen“ „stärkst wirkende Gifte“. Die Autoren erheben jedoch nach zweierlei Richtungen bezüglich der Methode der Giftdarstellung Einwände. Zunächst weisen sie auf die Möglichkeit hin, daß eine Giftabspaltung aus sekundär in die Versuchsröhrchen hineingelangten Fäulniskeimen erfolgen könne. Es ist bereits weiter oben darauf hingewiesen worden, daß das in unseren Versuchen keine Rolle gespielt haben kann, da ja die Giftabspaltung ganz gesetzmäßig von der Zeit und den quantitativen Verhältnissen zwischen Antigen und Antikörper in der Mischung abhängig ist, einerlei ob eine mehr oder weniger geringfügige Verunreinigung stattgefunden hat oder nicht. Da zudem, wie hier gleich vorweg bemerkt sein soll, nach der Auffassung von M. Wassermann und Keysser die Giftabspaltung gar nicht aus dem Antigen, sondern aus dem Antikörper statthaben soll, so ist es überhaupt schwer verständlich, wie hier so geringfügige sekundäre Verunreinigungen mit saprophytischen Bakterien störend wirken sollen.

Ein zweiter scheinbar gewichtigerer Einwand, den die Autoren erheben, ist der, daß das normale Meerschweinchen-serum in den beim Anaphylatoxinversuch in Betracht kommenden Dosen schon an sich gleiche Symptome auslösen kann, „wie sie Friedbergers Anaphylatoxin bewirkt“. Diese Giftigkeit des artgleichen Serums wurde von den Autoren „in mehr als der Hälfte der Fälle“ beobachtet. Dieser Befund ist höchst interessant und überraschend; denn seither hat man gerade das arteigene Serum stets für ungiftig gehalten. Wir selbst haben in sehr zahlreichen Versuchen auch niemals eine Toxizität

1) Fol. Serolog., Bd. 7, Heft 3.

des normalen Meerschweinchenserums in der Dosis von 4 ccm gesehen, während nach M. Wassermann und Keysser sogar schon Dosen von 2 ccm giftig wirkten¹⁾. Das ist um so auffallender, als nach unseren Versuchen vom Meerschweinchen von 200 g Körpergewicht sogar vom artfremden Kaninchen-serum glatt 3 ccm, vom Hammelserum selbst 4 ccm vertragen werden, und von Pferdeserum nach den Untersuchungen Uhlenhuths und anderer Mengen, die an die Dosen von physiologischer Kochsalzlösung heranreichen, die man einem Tier intravenös überhaupt einspritzen kann. Wir möchten es zunächst unentschieden lassen, ob in den Versuchen von M. Wassermann und Keysser ein besonderes abnormes Verhalten der Meerschweinchen vorlag, müssen den Autoren aber Recht geben, wenn sie unter diesen Umständen Kontrollen mit Meerschweinchenserum verlangen, das ungiftig sein soll, wenn es in gleichen Dosen gleich lange unter gleichen Bedingungen gehalten worden ist, wie die Quoten, die zum Nachweis des Anaphylatoxins eingespritzt werden.

Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß derartige Kontrollen in unseren seither veröffentlichten Versuchsreihen regelmäßig in großer Anzahl vorhanden sind. Ich verweise auf die Publikation mit A. Schütze in der Berliner klin. Wochenschrift, 1911, No. 9. In dieser Arbeit ist bezüglich des Komplements folgendes vermerkt:

„Da namentlich die Zusammensetzung des Meerschweinchekomplementserums gewissen Schwankungen unterliegt, so wurde innerhalb der einzelnen Versuchsreihen stets ein und dieselbe Komplementmischung benutzt . . .“

In dieser Arbeit haben wir, um nur einige Beispiele herauszugreifen, in Versuchsreihe 4 mit der gleichen Dosis desselben Komplements 2-mal Toxizität des Meerschweinchenserums, 2-mal nicht; in Versuchsreihe 8 sind 4,0 ein und derselben Komplementmischung nur 1-mal giftig, 6-mal nicht; in Versuchsreihe 9 2-mal giftig, 9-mal nicht; immer, wie gesagt, innerhalb ein und derselben Versuchsreihe mit ein und derselben Komplementmischung.

Wir finden also im Gegensatz zu M. Wassermann und Keysser von den zahlreichen unter

1) Die Autoren sprechen von 2—6 ccm. Gewicht der Tiere, bei denen die Giftigkeit geprüft wurde, ist nicht angegeben. Vielleicht ist bei Tieren unter 200 g die Injektion von 6 ccm Flüssigkeit an sich schon nicht ganz indifferent.

gleichen Bedingungen gehaltenen Komplement-quoten nur diejenigen giftig, in denen das Mengenverhältnis des zugesetzten Antigens zum Antikörper derart ist, daß nach unseren Erfahrungen die Bedingungen für eine Giftbildung günstig liegen. Nun könnte man noch den Einwand erheben, daß ein Ueberschuß von zugesetztem Antigen oder Immunsrum die nach M. Wassermann und Keysser primäre Giftigkeit des Meerschweinchenserums wieder aufhebe. Dieser Einwand ist aber natürlich hinfällig in den Versuchen, in denen die minimalen Zusätze von Antigen, bezw. Antikörper keine giftigen Abgüsse mehr lieferten. Denn wir haben ja immer gesehen, daß nur bei der Verwendung mittlerer Dosis der für die Giftabspaltung in Betracht kommenden Komponenten das Meerschweinchenserum giftig wirkt.

Auch aus den Versuchsreihen der nachstehenden Arbeiten ergibt es sich unzweideutig, daß die Giftigkeit der Komplementabgüsse der Einwirkung des Antikörpers auf das Antigen zuzuschreiben ist und nicht durch das artgleiche Meerschweinchenserum an sich hervorgerufen wird.

Aus der Versuchsreihe IV der Arbeit Friedbergers und Szymanowskis sehen wir z. B., daß in 5 Einzelversuchen das normale Meerschweinchenserum nach Kontakt mit Prodigiosusbacillen giftig ist, während dasselbe Meerschweinchenserum ganz ungiftig ist, wenn es mit Vibrio Metschnikoff in Berührung war.

In Versuchsreihe IX sind 0,5 Meerschweinchenserum giftig nach Kontakt mit einer bestimmten Menge Prodigiosusbacillen, während die 4-fache Dosis ungiftig ist, wenn sie mit einer ungünstigen Antigenmenge in Kontakt war. Noch eklatanter liegen die Verhältnisse in Versuchsreihe XIII, wo unter geeigneten Mengenverhältnissen bereits 0,9 Komplementserum giftig wirkt, 3,5 aber unter anderen Verhältnissen nicht.

In Versuchsreihe VIII sehen wir sogar 5,0 Meerschweinchenserum ungiftig nach Kontakt mit rohem Vibrio Metschnikoff, während dasselbe Serum nach Kontakt mit gekochtem Vibrio Metschnikoff zu den verschiedensten Zeiten akut tötet. Ähnlich liegen die Verhältnisse in Versuchsreihe XVI, wo aus bestimmten Mengen des Vibrio Metschnikoff sich zu keiner Zeit Gift abspalten ließ, wohl aber mit demselben Komplement aus dem Staphylococcus pyogenes.

Wir kommen also, im Gegensatz zu M. Wassermann und Keysser zu dem Schluß, daß in unseren Versuchen in keinem einzigen Fall eine primäre giftige Wirkung des normalen Meerschweinchens-

serums an sich für die artgleiche Species in Betracht kam, sondern lediglich die Einwirkung des normalen Meerschweinchenserums auf das Antigen bzw. die Antigen-Antikörpermischung die Giftigkeit bedingte.

Die Autoren bezweifeln jedoch, daß das Gift überhaupt aus dem Antigen stamme. Sie erwähnen zunächst die diesbezüglichen Einwendungen Fulds u. a. in der Diskussion zu meinem Vortrag. Sie haben aber an gleicher Stelle offenbar übersehen, daß durch die von mir bewiesene¹⁾, von Neufeld und Dold bestätigte Möglichkeit der Giftdarstellung durch das Normalserum aus gekochtem Antigen (und neuerdings sogar auch aus auf 120° im Autoklaven erhitztem Antigen), nicht aber bei Erhitzung des zur Abspaltung dienenden Normalserums über 56° hinaus, die Frage entschieden ist. Die Versuche lehren, daß wir das fermentative Prinzip im Ambozeptor-Komplementkomplex, das Abbaumaterial aber im Antigen vor uns haben.

Daß es sich bei der Anaphylatoxindarstellung aus Bakterien um einen fermentativen Eiweißabbau handelt, nehmen auch M. Wassermann und Keysser an; es ist ja übrigens auch längst durch den Nachweis von Spaltprodukten, die positive Biuretreaktion geben, durch Mita und mich²⁾ im Anschluß an die Versuche von Pfeiffer und Mita³⁾ bewiesen und ferner durch die Möglichkeit, mit künstlich hergestellten Eiweißspaltprodukten Anaphylaxie zu erzeugen. Doch glauben, wie gesagt, die Autoren nicht, daß dabei eine Aufspaltung des Antigens statt hat, sei es, daß sie die Gegenargumente nicht kennen, sei es, daß sie ihnen eine Beweiskraft nicht zusprechen.

Ihr Bestreben ging dahin, „eine Versuchsanordnung zu finden, welche die Vereinigung von Ambozeptor und Komplement gestattet, aber unter Verwendung eines Antigens, das unangreifbar, d. h. nicht abbaufähig seitens des Komplements ist“ (l. c. p. 246).

Die Autoren nahmen als „Antigen“ Kaolin oder Bariumsulfat, „sensibilisierten“ dieses mit inaktivem Normalpferdeserum als

1) Diese Zeitschr., Bd. 8, Heft 1/2. — Münch. mediz. Wochenschr., 1910, No. 50/51. — Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 11.

2) Deutsche med. Wochenschr., No. 9, Vereinsbeilage.

3) Diese Zeitschr., 1910.

„Ambozeptor“ und benutzten Normalmeerschweinchenserum als „Komplement“. „Es entsteht“ nach den Autoren „bei dieser Versuchsanordnung das typische Gift, welches die gleichen Symptome erzeugt, wie wir sie von dem Anaphylatoxin kennen.“ Nun wissen wir ja freilich, daß Substanzen wie Kaolin und Bariumsulfat imstande sind, Ambozeptor und Komplement zu adsorbieren. Aber es muß doch befremden, daß die Autoren derartige anorganische Substanzen deshalb ohne weiteres als Antigen erklären.

Unter Antigen verstehen wir bisher Körper, die, parenteral einem Tier eingespritzt, Antikörper erzeugen, bezw. das Tier überempfindlich machen; das tun doch anorganische Substanzen wie das Kaolin und das Bariumsulfat nicht! Es wird auch aus ihnen nicht, wie wir das für andere Antigene ermittelt haben, schon durch Normalmeerschweinchenserum allein Gift abgespalten, wie das auch aus den Versuchen 1 und 2 p. 247 hervorgeht.

Mit demselben Recht könnte man destilliertes Wasser, weil es Blutkörperchen löst, wie ein spezifisches Hämolysin, die Kalilauge, weil sie Bakterien ebensogut auflöst wie ein spezifisches Bakteriolyisin oder die Lösungen von Schwermetallsalzen, weil sie Bakterien ebensogut agglutinieren wie ein spezifisches Agglutinin, als Antikörper bezeichnen.

Auch das inaktivierte Pferdeserum ist in der Versuchsanordnung von M. Wassermann und Keysser unrichtig bezeichnet; es wirkt nicht als Ambozeptor, sondern es stellt eben das Antigen dar und das normale Meerschweinchenserum ist nicht nur Komplement, sondern zugleich Normalambozeptor plus Komplement.

Wir haben demnach nicht „zwei chemisch abbaubare Körper“, wie die Autoren meinen, sondern drei, und also auch ohne das Kaolin alles was zur Anaphylatoxinabspaltung in vitro notwendig ist. Die Autoren haben unbeachtet gelassen, daß es mir bereits vor längerer Zeit gelungen ist, gerade aus Normalpferdeserum durch Normalmeerschweinchenserum Anaphylatoxin zu erhalten, ohne daß dabei Zusätze anorganischer „Antigene“ notwendig gewesen wären (diese Zeitschr., Bd. 8, Heft 1/2).

Um das überschüssige Antigen aus der Zwischenflüssigkeit entfernen zu können, haben wir damals mit koaguliertem, ja sogar mit gekochtem Pferdeeiweiß gearbeitet. Wegen der völligen Ungiftigkeit des Pferdeserums aber haben wir neuerdings auf eine Entfernung der Antigenüberschüsse aus der Zwischenflüssigkeit verzichtet und haben ausschließlich auf 56° erhitztes Pferdeserum benutzt.

In Gemeinschaft mit E. Nathan habe ich neuerdings unter diesen Verhältnissen die quantitativen Bedingungen für die Giftabspaltung aus normalem Pferdeserum durch Normalmeerschweinchenserum ohne Immunambozeptor eingehend studiert, weil sie uns für die Auffassung des Wesens der Anaphylaxie von theoretischen Gesichtspunkten aus bedeutungsvoll erschienen. Diese Versuche werden ausführlich in der nächsten Nummer dieser Zeitschrift veröffentlicht. Aus ihnen ergibt es sich, daß es bei geeigneten Mengenverhältnissen leicht gelingt, auch aus inaktiviertem Normalpferdeserum durch einfaches Normalmeerschweinchenserum Anaphylatoxin abzuspalten. Auch hier wirkt ein Ueberschuß des Antigens ungünstig auf die Giftbildung ein.

Wenn M. Wassermann und Keysser „mit aller Klarheit ausschließen, daß diese Gifte aus dem Antigen durch Zerfall oder Abbau entstanden sind“ (p. 248), „das Antigen für die Giftbildung „nicht in Frage kommt“ und „chemisch keine Rolle spielt“ (l. c. p. 251), so ist das fraglos, für das von Wassermann und Keysser so genannte „Antigen“ richtig. Aber dieses ist eben kein Antigen.

Was die Versuche mit aller Klarheit beweisen, ist einzig die Tatsache, daß die Gegenwart von Kaolin und Bariumsulfat die Abspaltung des Anaphylatoxins aus Normalpferdeserum nicht verhindert.

Da, wie schon gesagt, das Pferdeserum in den Versuchen nicht als „Ambozeptor“ aufgefaßt werden darf, sondern als Antigen, so ist damit auch die Behauptung widerlegt, daß das Gift aus dem Ambozeptor entstehe. In den Versuchen (p. 249), die das beweisen sollen, fehlt zudem gerade die allein noch mögliche vierte Kombination in der Versuchsanordnung, d. h. die Kontrolle mit Normalpferdeserum und Normalmeerschweinchenserum ohne Kaolin (es sind nur zwei Kontrollen da, die ohne Kaolin und die ohne Komplement).

In Uebereinstimmung mit unseren Versuchen (Friedberger, Friedberger und Nathan) hätte sich natürlich

auch hier ohne Kaolin unter geeigneten Dosen des Pferdeserums eine Giftabspaltung ergeben müssen¹⁾.

Würde tatsächlich der Ambozeptor unter Giftbildung abgebaut, dann wäre es nicht verständlich, wie bei einer Dosis von Ambozeptor, die bei einer bestimmten Antigenmenge wirksames Gift liefert, eine Vermehrung der Antigenmenge die Giftbildung wieder aufhebt. Wenn das Gift tatsächlich aus dem Ambozeptor entstünde, müßte die Antigenmenge vollständig gleichgültig sein. Vor allem aber müßte der Ambozeptor, wenn aus ihm das Gift entstünde, bei dem Prozesse verschwinden. Wir wissen aber aus den Untersuchungen von Pfeiffer und Friedberger²⁾, daß die Antikörper sich sogar noch nach erfolgter Lyse quantitativ nachweisen lassen, während andererseits Doerr und Moldovan³⁾ gezeigt haben, daß das Antigen aus Präzipitaten verschwindet und nicht einmal mehr mittels der so empfindlichen aktiven Anaphylaxie nachzuweisen ist. Damit ist also erwiesen, daß das Gift nicht aus dem Ambozeptor stammen kann, und so entfallen auch die Schlußfolgerungen, die M. Wassermann und Keysser bezüglich des feineren Mechanismus der Giftbildung machen und über den Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und Immunität.

1) An einer Stelle sprechen allerdings die Autoren von „Versuchen, in denen das Komplement für sich allein nicht giftig war, auch das Komplement mit Ambozeptor allein keine Giftigkeit zeigte“. In den beiden Versuchsprotokollen fehlen, wie schon hervorgehoben, derartige Kontrollen. Das Resultat wäre aber an sich nicht weiter verwunderlich und leicht verständlich auf Grund der quantitativen Untersuchungen über die Abspaltung von Gift aus Eiweiß. Speziell haben die Untersuchungen von Friedberger und Nathan für das normale Pferdeserum ergeben, daß die Breite der Antigendosis, aus der sich durch eine bestimmte Menge Komplement-Gift gewinnen läßt, nur eine geringe ist, namentlich wirkt ein Ueberschuß von Antigen störend. Da nun am Kaolin natürlich nur wenig Pferdeserum haftet, so kann unter Umständen das von den Autoren beobachtete Resultat zustande kommen, ohne daß das Kaolin aber natürlich irgendwelche andere Bedeutung für die Reaktion hat, als daß es eine Dosis Antigen (Pferdeserum) absorbiert, die gerade für die Giftabspaltung günstig ist.

2) Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, No. 1, p. 74.

3) Doerr und Moldovan, diese Zeitschr., Bd. 7.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

27

Wir können den Autoren natürlich unter diesen Umständen nicht beipflichten, wenn sie schreiben: „Es ist klar, daß der von uns durch vorliegende Versuche gewonnene Nachweis, daß der Mechanismus der Komplementwirkung der ist, daß das Komplement nicht, wie man zuerst annahm, am Antigen, sondern daß es zunächst am Ambozeptor angreift und daß als zweite Phase erst das Angreifen des von dem Ambozeptor gleichsam überzogenen Antigens folgt, daß also die Wirkung die ist, daß ein Antigen erst mit einer Substanz imprägniert wird, die das Komplement abbaut, eine über die Erklärung der Anaphylaxie hinausreichende allgemeine Bedeutung hat“ (l. c. p. 250/51).

Namentlich die Hypothese über den Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und Immunität ist nicht haltbar. Wenn bei der Anaphylaxie „das Antigen nur die physikalisch-chemische Möglichkeit bietet, daß der Ambozeptor sich fixieren kann“ und „durch den Zutritt des Komplementes nur der Ambozeptor abgebaut wird“ und „der bisher so unklare Unterschied zwischen Anaphylaxie und der Immunität“ darin begründet ist, „daß bei der Anaphylaxie das Komplement nur imstande ist, den Ueberzug über das Antigen, den Ambozeptor zu verdauen, während bei der Immunität die Kraft und Menge des Ambozeptors eine viel höhere ist und demzufolge die Tätigkeit des Komplementes nicht auf den Ambozeptor, sondern auch auf das von dem Ambozeptor überzogene bzw. imprägnierte Antigen sich erstreckt“ (l. c. p. 251), so ist das mit den Tatsachen nur schwer in Einklang zu bringen. Hätte das Komplement wirklich die Aufgabe, den Ambozeptor zu verdauen, dann wäre es bei Beladung des Antigens mit reichlichen Ambozeptormengen noch mehr in Anspruch genommen, und es wäre nicht zu verstehen, weshalb es gerade in diesen Fällen nun auch noch das Antigen angreifen sollte.

Fassen wir unsere Kritik dieser Arbeit zusammen, so ergibt sich folgendes:

Die Versuche von Wassermann und Keysser geben keine weitere Aufklärung über den Mechanismus der Anaphylatoxinbildung.

Vor allem widerlegen sie nicht unsere Annahme, wonach die Giftabspaltung aus dem Anti-

gen erfolgt¹⁾. Sie beweisen nur, daß die Gegenwart von Kaolin oder Bariumsulfat der von uns bereits früher gefundenen Giftabspaltung aus Pferdeserum nicht hinderlich ist.

Beweise für die Existenz eines besonderen Spaltproduktes aus dem Ambozeptor — des „Toxo-peptides“ — das von unserem „Anaphylatoxin“ verschieden wäre, sind nicht erbracht.

1) Von vornherein braucht man nicht unbedingt anzunehmen, daß das Pferdeeiweiß das Antigen darstellt und das Normalmeerschweinchenserum den Ambozeptor und das Komplement liefert.

Es wäre auch denkbar, daß das Meerschweinchenserum als Antigen fungiert, das Pferdeserum den Ambozeptor lieferte und das normale Meerschweinchenserum außerdem das Komplement. Eine derartige Annahme ist aber von vornherein ausgeschlossen bei Verwendung von Bakterien, die ja doch nicht die Rolle des Ambozeptors spielen können.

Ferner ist die Annahme widerlegt durch die Versuche, in denen die Giftbildung aus gekochtem Pferdeserum erzielt wurde; hier kann natürlich auch das Pferdeserum nur als Antigen und nicht als Ambozeptor wirken. Der Abbauprozess im Reagenzglas spielt sich also am Antigen ab.

Es ist aber andererseits natürlich nicht ausgeschlossen, daß die im Reagenzglas gebildeten Spaltprodukte, sobald sie in den Organismus des Meerschweinchens, an dem sie geprüft werden, hineingelangen, hier noch weitere Veränderungen erfahren können; dabei ist es einmal möglich, daß die im Glas noch nicht weit genug abgebauten Produkte eine Vermehrung ihrer Toxizität erfahren, andererseits schon vorher bis zur maximalen Toxizität gelangte, weiter in ungiftige Körper zerlegt werden.

Für eine Mitbeteiligung des Organismus in derartigen Fällen spricht die in Gemeinschaft mit Nathan gelegentlich gefundene, auch schon von Dewitzki mitgeteilte Tatsache, daß Tiere, die eine Vergiftung mit Anaphylatoxin überstanden haben, bald darauf gegenüber einer für Kontrolltiere sicher tödlichen Dosis refraktär waren. Nach mündlicher Mitteilung haben unabhängig von uns H. Ritz und H. Sachs Ähnliches beobachtet. Wir haben hier vielleicht ein Analogon zur Peptonimmunität.

Daß aber gleichwohl in vitro fertiges Gift sich bildet, möchten wir auch aus unseren Versuchen mit Anaphylatoxin am überlebenden Froschherz (Friedberger und Mita, Naturforscherversammlung Königsberg i. Pr., 1910) schließen, in denen ein weiterer Abbau durch den ausgewaschenen Herzmuskel kaum angenommen werden kann.

II. Ueber die Bildung akut wirkenden Anaphylatoxins aus verschiedenen Mikroorganismenarten.

Von

E. Friedberger und E. Goldschmid,

z. Zt. Assistent am pathol. Institut
der Universität Genf.

Indem wir bezüglich der theoretischen Erörterungen, die sich aus den folgenden Befunden ergeben, auf die vorstehende Einleitung und auf die Ausführungen verweisen, die in den Arbeiten (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32 u. 42; Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50/51; Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 7, 8, 11) enthalten sind, soll im nachstehenden über die damals vorläufig veröffentlichten Versuche und über weitere ausführlicher berichtet werden ¹⁾.

I. Versuche mit *Vibrio Metschnikoff*.

Der zu diesen Versuchen benutzte Stamm von *Vibrio Metschnikoff* besaß eine hohe Virulenz für Tauben und tötete Meerschweinchen etwa innerhalb 18 Stunden bei intraperitonealer Injektion einer Oese 18-stündiger Kultur.

Ueber die Wirkung der abgetöteten Bakterienleibessubstanzen geben die beiden nachstehenden Versuche Aufschluß.

Eine gutbewachsene Schrägagarkultur *Vibrio Metschnikoff* wird in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dann durch dreimal hintereinander erfolgende Einwirkung von Chloroformdämpfen (jedesmal 10 Minuten) abgetötet.

Nach Verdunsten des Chloroforms erhält ein Meerschweinchen, 200 g, 2 ccm intravenös.

Das Tier erscheint leicht krank, erholt sich jedoch bald wieder und stirbt erst innerhalb von 32 Stunden.

Ein anderes Meerschweinchen von gleichem Gewicht erhält 1 ccm der gleichen Emulsion intravenös.

Keine Symptome, Tier bleibt leben.

1) Ueber weitere Versuche mit dem Anaphylatoxin aus Tuberkelbacillen vergl. auch Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 9, und die unmittelbar stehende Arbeit mit A. Schütze, über *Prodigious* und *Typhus-bacillus* die Abhandlung mit Szymanowski.

Wir sehen also, daß die gesamte Leibermasse einer Viertel Agarkultur einem Meerschweinchen von 200 g intravenös injiziert keine Symptome hervorruft, und erst eine halbe Kultur toter Bakterien das Tier in 32 Stunden an Vergiftung sterben läßt. Eine ganz andere Wirkung aber, die mit der eben geschilderten in gar keinem Vergleiche steht, erhält man, wenn man die Bakterien vorher mit normalem Meerschweinchen-serum digeriert und dann nur den von den Bakterien durch Zentrifugieren befreiten Komplementabguß intravenös injiziert. Dabei erscheint es zunächst ganz irrelevant, ob man lebende oder tote Bakterien verwendet ¹⁾).

Versuch I.

9. VI. 10. 1 Kultur Vibrio Metschnikoff, 3 Stunden bei 60° abgetötet, mit Kochsalzlösung gewaschen; zum Bodensatz 4,0 Normalmeerschweinchen-serum, 24 Stunden im Eisschrank.

10. VII. Zentrifugieren. Injektion des Abgusses.
G 12, Meerschweinchen, 200 g.
Schwere Anaphylaxie; tot in 3 Minuten.

Im Gegensatz zu dieser ungemeinen Giftigkeit des Abgusses ist der gesamte Bakterienbodensatz ungiftig. Das zeigt der folgende Versuch.

Versuch II.

G 13, Meerschweinchen, 200 g, erhält den gewaschenen Bodensatz in 4,0 physiologischer Kochsalzlösung.
Keine Symptome. Lebt.

Der nachstehende Versuch zeigt, daß die Giftabspaltung auch durch normales Kaninchenserum gelingt.

Eine akute Wirkung wie im vorhergehenden Fall wurde offenbar deshalb nicht erzielt, weil geringere Mengen (2,5) eines dazu noch an Komplement ärmeren Serums verwandt wurden.

Doch erschien es bedenklich, größere Dosen von Kaninchenserum wegen dessen primärer Giftigkeit zu verwenden.

1) Weitere quantitative Versuche über die Giftabspaltung aus lebenden und abgetöteten Bakterien (durch 100°) siehe die beiden folgenden Arbeiten.

Versuchsreihe III.

12. VI. 10. Je 1 Agarkultur *Vibrio Metschnikoff* wurden versetzt mit je 3,0 Normalmeerschweinchen- resp. Normalkaninchenserum. 24 Stunden im Eisschrank.

15. VI. 10. Zentrifugieren. Prüfung der Abgüsse (Dosis je 2,5 ccm). Tiere von je 200 g.

Ver- such No.	Kultur- menge	Komplement	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	1 Agark.	2,5 N.-Meersch.-S.	G 18	leichte Anaphylaxie	tot in 4 Std.
II	do.	2,5 N.-Kan.-Ser.	G 20	keine deutl. Symptome	tot n. 24 Std.
III	do.	do.	G 21	leichte Anaphylaxie	tot in 4 1/2 Std.

Versuchsreihe IV.

Die Bodensätze der Versuche No. I—III werden mit Kochsalzlösung gewaschen und abermals mit je 3,0 Meerschweinchen- resp. Kaninchennormalserum versetzt. 24 Stunden im Eisschrank.

Zentrifugieren. Prüfung der Abgüsse (Versuch Ia—IIIa). Tiere von 200 g.

Versuch No.	Komplement von	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
Ia	2,5 N.-Meersch.-S.	G 22	leichte Symptome	tot in 24 Std.
IIa	2,5 N.-Kan.-Ser.	G 24	schwere Anaphylaxie	tot in 2 Std.
IIIa	do.	G 25	keine deutl. Symptome	tot in 24 Std.

Die Versuche ergeben, daß sich durch die einfache Wirkung von Normalmeerschweinchen- und Normalkaninchenserum sowohl aus lebenden wie aus abgetöteten Kulturen des *Vibrio Metschnikoff* Anaphylatoxin abspalten läßt¹⁾.

II. Versuche mit Typhusbakterien.

Der zu diesen Versuchen benutzte Stamm Gießen besaß für Meerschweinchen eine sehr geringe Virulenz. Eine Oese intraperitoneal tötete ein Tier von 200 g nicht einmal sicher innerhalb von 24 Stunden.

1) Ueber weitere Versuche mit *Vibrio Metschnikoff* siehe die folgende Arbeit. Es ergibt sich, daß aus dem *Vibrio* bei Verwendung zu kleiner Bakteriendosen kein Gift erzielt wird.

Die geringe Giftigkeit der Bakterienleibessubstanzen zeigt der folgende Versuch.

Versuch V.

$\frac{1}{2}$, gut gewaschene Agarkultur Typhusbakterien wird in 4 ccm destillierten Wassers $1\frac{1}{2}$, Stunden im Schüttelapparat geschüttelt.

Meerschweinchen No. 102 g erhält die gesamte Aufschwemmung, nach dem die Flüssigkeit auf 0,8 Proz. NaCl gebracht ist, intravenös.

Abgesehen von geringer Atembeschleunigung keine Symptome.

Im nachstehenden folgt eine Versuchsreihe (VI), in der konstante Mengen von Agarkultur dieses Typhusstammes teils mit, teils ohne vorherige Beladung mit Ambozeptorserum mit normalem Meerschweinchenserum digeriert wurden.

In einem Teil der Versuche wurde an Stelle frischen Meerschweinchensersums inaktiviertes Meerschweinchenserum verwandt.

In 2 Kontrollversuchen (XVI und XVII) wurde das zur Beladung der Bakterien benutzte Immunserum allein auf seine Toxizität geprüft, in einem weiteren Kontrollversuch die Giftigkeit der verwandten Typhuskulturen (XVIII).

Die Tatsache, daß vor Ansetzen des Versuches eine halbe Typhuskultur intravenös das Meerschweinchen tötete (G 59, Versuch No. XIX), während die gleiche Bakteriendosis im Versuch XVIII ohne Erfolg war, ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Bakterien im letzteren Fall durch das wiederholte Zentrifugieren und Waschen eine bedeutende Abschwächung erfahren haben.

Versuchsreihe VI.

30. VI. 10. 10 3-tägige Typhusschrägagarkulturen werden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Je 5 ccm = $\frac{1}{2}$, Kultur werden mit dem gleichen Typhusimmunserum vom Pferd versetzt resp. mit entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung alles auf 11 ccm Volum aufgefüllt. 24 Stunden im Eisschrank.

1. VII. Zentrifugierung, Waschen, Zusatz von je 4,0 Meerschweinchenserum aktiv resp. inaktiviert zu den Bodensätzen. 24 Stunden in Eisschrank.

2. VII. Zentrifugierung, Prüfung der Komplementabgüsse (Dosis 4,0), Tiere von 200 g.

Tabelle.

Ver- such No.	Kultur- menge (Typhus)	Immun- serum	Gift- dosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	$\frac{1}{2}$ Schräg- agarkultur	0	4,0	G 61	sehr schwere Anaph.	tot 4'
II	agl.	0	4,0	G 64	leichte Anaphylaxie	tot 18 Std.
III	"	0	4,0 56°	G 62	0	lebt
IV	"	0	4,0 56°	G 63	0	"
V	"	1,0	4,0	G 66	schwere Anaph., er- holt sich	"
VI	"	1,0	4,0	G 69	sehr schwere Anaph.	tot 4'
VII	"	1,0	4,0 56°	G 65	0	lebt
VIII	"	1,0	4,0 56°	G 68	0	"
IX	"	0,1	4,0	G 67	sehr schwere Anaph.	tot 8'
X	"	0,1	4,0	G 70	" " 0	tot 11'
XI	"	0,1	4,0 56°	G 73	" " 0	lebt
XII	"	0,01	4,0	G 71	sehr schwere Anaph.	tot 2'
XIII	"	0,01	4,0 56°	G 75	0	lebt
XIV	"	0,001	4,0	G 72	sehr schwere Anaph.	tot 5'
XV	"	0,001	4,0 56°	G 74	0	lebt
XVI	—	1,0	0	G 76	0	"
XVII	—	0,1	0	G 77	0	"
XVIII	$\frac{1}{2}$ Schräg- agarkultur	0	0	G 79	0	lebt

XIX Am 30. VI. vor Ansetzen der Versuche wurde $\frac{1}{2}$ Kultur der gleichen Typhusaufschwemmung einem Meerschweinchen, G 59, 200 g injiziert.

Zunächst keine Symptome, später die einer zunehmenden Infektion. Tot nach 24 Stunden. Kein typischer Obduktionsbefund.

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt es sich, daß es so gut wie regelmäßig gelingt, aus Mengen von beladenen oder unbeladenen Typhusbakterien, die an sich nicht tödlich wirken, durch normales Meerschweinchenserum eine akut tödliche Dosis von Anaphylatoxin abzuspalten. Die Abspaltung jedoch sowohl aus beladenen wie aus unbeladenen Bakterien, gelingt in keinem Fall, wenn an Stelle normalen Meerschweinchensersums inaktives Normalmeerschweinchenserum verwendet wird.

Ein höchst unerwartetes und interessantes Resultat wurde nun erzielt, wenn bei Verwendung der gleichen Mengen Typhusbakterien eine Beladung mit größeren Ueberschüssen von Immunserum statt hatte.

Versuchsreihe VII.

27. VI. 10. Je $\frac{1}{2}$, 3-tägige Typhusschrägagarkultur wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit fallenden Mengen Typhusimmunserum vom Pferd versetzt.

Alle Röhrchen auf gleiches Volum (10 ccm) aufgefüllt, kommen 1 Stunde in den Thermostaten von 37°, dann 24 Stunden in den Eisschrank.

28. VI. Es wird zentrifugiert, sorgfältig gewaschen, und jeder Bodensatz mit 4,0 Komplementserum versetzt.

29. VI. Prüfung der Komplementabgüsse; Tiere von 200 g Gewicht.

Tabelle.

Versuch No.	Kulturmenge (Typhus)	Immunserum (Antityphus-pferdeserum)	Gift-dosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	$\frac{1}{2}$, Kultur	0,05	4,0	—	deutl. Anaphylaxie	erholt sich
II	dgl.	0,1	4,0	G 52	sehr schwere Anaph.	tot 4'
III	"	0,25	3,5	G 51	" " "	tot 22'
IV	"	0,5	4,0	G 50	" " "	erholt sich
V	"	1,0	4,0	G 49	" " "	tot 2'
VI	"	2,5	4,0	G 48	" " "	tot 2'
VII	"	5,0	3,0	G 45	" " 0	lebt
VIII	"	10,0	4,0	G 44	leicht anaphyl.	"
IX	G 57, Meerschweinchen 220 g, erhält den Bodensatz von Versuch No. IV in 4,0 Kochsalzlösung aufgeschwemmt: bleibt leben ohne Symptome.					
X	G 58, 170 g, erhält ebenso Bodensatz von Versuch No. V — keine Symptome, bleibt leben.					

Der Versuch zeigt uns unzweideutig, daß bei einer allzu reichlichen Beladung von Bakterien mit Antikörper im Komplementabguss keine tödliche Dosis von Anaphylatoxin mehr nachweisbar ist. Es handelt sich offenbar — dafür spricht auch das Ergebnis weiterer Versuche — darum, daß durch die reichliche Beladung mit Immunserum das entstandene Gift weiter abgebaut worden ist. Eine Komplementablenkung ist auszuschließen, weil der Ueberschuß von Immunserum durch Waschen entfernt war.

In der Einleitung sind diese Verhältnisse bereits näher auseinandergesetzt.

In analoger Weise wie der vorige verlief auch der folgende Versuch, in dem gleichfalls die größeren Dosen Typhus-

pferdeimmunserums bei kleinerer Kulturmenge eine schlechtere Giftausbeute ergaben.

Versuchsreihe VIII.

Versuchsanordnung wie vorher. Menge und Dosis des Komplements jedoch nur 3,0 Normalmeerschweinchenserum. Tiere von 200 g.

Versuch No.	Kulturmenge	Immunserum-menge-	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	1 Agarkultur	2,0	sehr schwere Anaphylaxie	tot in 28 Min.
II	1 "	5,0	" " "	" " 5 "
III	1 "	10,0	" " "	" " 6 "
IV	1/2 "	0,5	" " "	" " 3 "
V	1/2 "	2,0	leichte Anaphylaxie	" " 24 Std.
VI	1/2 "	7,0	" "	do.

Aus diesem Versuch sieht man besonders eklatant, daß Immunserummengen, die bei einer bestimmten Antigenmenge für die Erzielung einer akut tödlichen Giftdosis zu groß sind (Versuch VI), sofort wieder wirksam werden, und sogar noch größere Dosen, wenn die Antigenmenge vermehrt wird (Versuch III)¹⁾.

III. Versuche mit dem *Bacillus prodigiosus*.

Der *Prodigiosus* diente uns in unseren Versuchen als Paradigma für saprophytische Bakterienarten. Die Giftabspaltung erfolgte in den nachstehenden Versuchen ausschließlich durch Normalserum.

Bezüglich der Anaphylatoxinbildung unter der Einwirkung von Immunserum verweisen wir auf die nachstehende Arbeit von Friedberger und Szymanowski.

Versuchsreihe IX.

7. VII. Je 1/2, Schrägagarkulturen des *B. prodigiosus*²⁾ wird mit 4,0 Normalmeerschweinchenserum versetzt. 24 Stunden im Eisschrank.

8. VII. Zentrifugierung. Prüfung der Abgüsse auf Giftigkeit. Tiere von 200 g.

1) Weitere Versuche mit Typhusbakterien siehe die nächste Arbeit.

2) Wir benutzten meist 2 Tage bei 20° gewachsene rote Kulturen, doch gelingt die Giftabspaltung auch mit farblosen bei 37° gewachsenen.

Versuch No.	Kultur- menge	Giftosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	1/2 Kultur	4,0	G 103	sehr schwere Anaphylaxie	tot in 3 Min.
II	do.	2,5	G 104	„ „ „	„ „ 6 „

Bodensatz von Versuch No. I gewaschen und in 4,0 physiologischer Kochsalzlösung an No. G 106 200 g. Keine Symptome, lebt.

Die beiden folgenden Versuche demonstrieren, mit wie geringen Mengen von Normalmeerschweinchenserum noch die Abspaltung einer akut tödlichen Anaphylatoxindosis aus einer halben Kultur des *Bacillus prodigiosus* gelingt.

Versuchsreihe X.

12. VII. Je 1/2 Agarkultur *Bacillus prodigiosus* wird mit je 4,0 Normalmeerschweinchenserum resp. 4,0 Normalmeerschweinchenserum inaktiv versetzt. Eisschrank.

13. VII. Zentrifugierung; Prüfung der Abgüsse: Tiere von 200 g.

Versuch No.	Prodigiosus- menge	Giftosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	1/2 Agarkultur	3,0	Y 4	sehr schwere Anaph.	tot in 3 Min.
II	dgl.	1,5	Y 5	„ „ „	„ „ 4 Std.
III	„	4,0 56°	Y 2	leicht krank	tot nach 24 Std.
IV	„	4,0 56°	Y 3	„ „	do.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß man noch mit 1,5 normalen Meerschweinchenserum imstande ist, eine allerdings erst in einer Stunde tödliche¹⁾ Dosis von Gift zu erzielen, während das auf 56° erhitzte Komplementserum kein akut wirkendes Gift mehr liefert.

Wie gering andererseits die Mengen von *Prodigiosus* sind, die bei einer konstanten Dosis von normalem Meerschweinchenserum genügen, das zeigt die folgende Tabelle, in der fallende Mengen des *Prodigiosusbacillus* mit je 4,0 Normalmeerschweinchenserum versetzt wurden.

1) Die verspätete Wirkung kleiner Abgüßmengen kommt offenbar dadurch zustande, daß noch darin vorhandene Vorstufen des Giftes erst durch den Organismus weiter abgebaut werden müssen.

Versuchsreihe XI.

25. VII. Fallende Mengen von *Bacillus Prodigiosus* werden mit je 4,0 Normalmeerschweinchenserum versetzt. 24 Std. Eisschrank.

26. VII. Zentrifugieren, Prüfung der Abgüsse. Tiere von 200 g Gewicht.

Ver- such No.	Kultur- menge	Giftosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	1 Oese	4,0	Y 64	sehr schwere Anaphylaxie	tot in 3 Min.
II	$\frac{1}{3}$ "	4,0	Y 67	" " "	tot in 4 Min.
III	$\frac{1}{10}$ "	4,0	Y 65	" " "	tot in 4 Min.
IV	$\frac{1}{100}$ "	4,0	Y 66	sehr geringe Symptome	lebt

Kontrolle:

V Y 69, 200 g, erhält Bodensatz von Versuch No. III in 4,0 physiologischer Kochsalzlösung: munter.

VI Y 70, 190 g, erhält ebenso von Versuch No. II: leicht krank, erholt sich.

VII Y 71, 200 g, erhält ebenso von Versuch No. I: munter.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß noch durch $\frac{1}{10}$, nicht aber mehr durch $\frac{1}{100}$ Oese des *Bacillus prodigiosus* unter der Einwirkung von 4,0 Normalmeerschweinchenserum eine akut tödliche Giftmenge abgespalten wird.

IV. Versuche mit Tuberkelbacillen.

Zu diesen Versuchen wurden verschiedene ältere Tuberkelbacillenstämme des Typus humanus und bovinus, die auf Agar gezüchtet waren, benutzt, und ferner ein durch Filtration aus Bouillonkulturen gewonnener hochvirulenter Humanusstamm sowie Trockenpräparate beider Typen, die von den Höchster Farbwerken dargestellt und uns in liebenswürdiger Weise seinerzeit für unsere Sammlung überlassen worden waren.

Die näheren Angaben über das jeweils benutzte Antigen finden sich in den einzelnen Versuchsprotokollen.

Die Versuche mit dem Tuberkelbacillus erscheinen uns vor allem deshalb interessant, weil es sich hier um eine für das Meerschweinchen hochvirulente Bakterienart handelt, und weil die Experimente gewisse Aufschlüsse liefern über die ja noch immer nicht völlig geklärte Wirkungsweise des Tuberkulins.

Bezüglich der betreffenden Ausführungen sei wiederum auf die Einleitung verwiesen, sowie auf die Arbeit des einen

von uns, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 11 und die Diskussionsbemerkungen, *ibid.*, No. 9¹⁾).

Nachstehend folgt ein Versuch, in dem gleiche Tuberkelbacillenmengen mit verschiedenen Immun-

1) Anm. bei der Korr.: M. Wassermann und Keysser sprechen die Ansicht aus, daß neben den Beobachtungen von v. Pirquet und Schick in den Untersuchungen von Wassermann und Bruck „erst experimentelle Grundlagen für die Erklärung des Ueberempfindlichkeitszustandes beigebracht werden“.

Es bedarf wohl an dieser Stelle keiner weiteren Auseinandersetzung, daß die Darstellung des Anaphylatoxins aus Tuberkelbacillen in vitro durch Bakterien, freien Ambozeptor und Komplement nichts zu tun hat mit der von Wassermann und Bruck auf Grund von Komplementablenkungsversuchen in vitro angenommenen Wechselwirkung zwischen rein hypothetischen sessilen Rezeptoren im Krankheitsherd, Tuberkulin (resp. Tuberkelbacillen), das dorthin spezifisch verankert wird und Komplement. Eine Verarmung des Serums an Komplement bei der Tuberkulinreaktion — wie sie Friedberger und Hartoch bei der Eiweißanaphylaxie quantitativ — Sleswijk schon vorher qualitativ ermittelt haben, nachzuweisen haben Wassermann und Bruck nicht versucht, ebensowenig die Darstellung eines Giftes, das mit unserem aus Tuberkelbacillen in vitro entstehenden, akut tötenden Anaphylatoxin identisch wäre. Sie haben nur gezeigt, daß Mischungen von Tuberkulin und Antituberkulin in vitro Komplement verankern.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit darauf hinweisen, daß auch meine Anschauung über die Entstehung der Herdreaktion, wie ich sie auf Grund der Versuche bei der Eiweißanaphylaxie gewonnen habe, von der von v. Wassermann abweicht.

Im Krankheitsherd sind bis jetzt sessile Rezeptoren nicht nachgewiesen, sondern nur Antigen im wesentlichen in Form von Tuberkelbacillen. Demzufolge liegt keine Veranlassung vor, anzunehmen, daß eingespritztes Antigen in dem Krankheitsherd gespeichert wird, wie v. Wassermann glaubt, sondern die Tuberkulininjektion bewirkt bei dem empfindlichen Tuberkulösen eine sehr beschleunigte Neubildung von freien Antikörpern (wie wir sie auch bei dem mit Eiweiß präparierten Tier bei Reinjektion sehen), die in den Krankheitsherd eindringen, sich mit dem Antigen verbinden. Dieser Komplex verankert seinerseits Komplement; dadurch erfolgt ein Abbau und das giftige Spaltprodukt (Anaphylatoxin) wirkt entzündungserregend auf das umgebende Gewebe, nicht das Komplement, das ja, wie schon Morgenroth und Rabinowitsch betont haben (Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 18) allein vom Antigen-Antikörperkomplex verankert wird (vergl. Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 8, 11).

Wenn auch diesem Erklärungsversuch noch viel Hypothetisches anhaftet, so ist er unserer Meinung nach doch durch die für die Eiweißanaphylaxie ermittelten Tatsachen wesentlich gestützt.

serumdosen beladen wurden und die Giftabspaltung mit je 4,0 Meerschweinchenserum geschah.

Die gewaschenen Bodensätze der beladenen Bakterien wurden zum Teil noch ein zweites Mal mit Normalmeerschweinchenserum digeriert.

Versuchsreihe XII.

12. VII. 10.

A. Je $\frac{1}{2}$, gutgewachsene Schrägglyzerinagarkultur in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Serie A.

B. Tuberkelbacillen (Höchst) getrocknet vom Typus humanus werden im Achatmörser zerrieben und je soviel in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gebracht, daß eine Suspension von annähernd der gleichen Dichte entsteht wie in Serie A. Serie B.

C. Tuberkelbacillen (Höchst) getrocknet vom Typus bovinus werden ebenso behandelt wie unter B angegeben. Serie C.

Jedes Röhrchen der Serie A—C wird mit variablen Mengen Tuberkuloseimmunserum „Höchst“ im Volum von 1 ccm (resp. physiologischer Kochsalzlösung — Kontrollen) versetzt. 24 Std. im Eisschrank.

13. VII. Zentrifugieren, Waschen. Zusatz von je 4,0 Normalmeerschweinchenserum zu den Bodensätzen. 24 Std. im Eisschrank.

14. VII. Zentrifugieren, Prüfung der Abgüsse. Tiere von 200 g Gewicht.

Serie A (Agarkulturaufschwemmung).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. je $\frac{1}{2}$ Kultur emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	5,0 ccm	1,0	Y 15	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	erholt
II	5,0 „	0,1	Y 14	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	erholt
III	5,0 „	0,01	Y 16	4,0	4,0	keine deutl. Sympt.	lebt
IV	5,0 „	0,001	Y 17	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
V	5,0 „	—	Y 12	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	erholt
VI	5,0 „	—	Y 13	4,0	4,0	keine Symptome	lebt

Serie B (Trockenbacillen Typus humanus).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. Typ. hum. emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	5,0	1,0	Y 20	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	tot in 6'
II	5,0	0,1	Y 19	4,0	4,0	„ „ „	tot in 5'
III	5,0	0,01	Y 18	4,0	4,0	„ „ „	erholt
IV	5,0	0,001	Y 21	4,0	4,0	leichte „Anaphylaxie	erholt
V	5,0	—	Y 11	4,0	4,0	schwere Anaphyl.	erholt

Serie C (Trockenbacillen Typus bovinus).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. Typ. bov. emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	5,0	1,0	Y 23	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	erholt
II	5,0	0,1	Y 24	4,0	4,0	sehr leichte Anaph.	erholt
III	5,0	0,01					
IV	5,0	0,001					
V	5,0	—	Y 22	4,0	4,0	schwere Anaphyl.	erholt

Versuchsreihe XIIa.

15. VII. Zu den gewaschenen Bodensätzen der obigen Versuchsreihe werden zum Teil von neuem je 4,0 Komplement zugesetzt. 24 Std. im Eisschrank.

16. VII. Zentrifugieren, Prüfung der Abgüsse. Tiere von 200 g Gewicht.

Serie A (Agarkulturaufschwemmung).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. je 1/2 Kultur emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
Ia	5,0	1,0	Y 26	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IIIa	5,0	0,01	Y 27	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	tot in 5'
IVa	5,0	0,001	Y 28	4,0	3,0	leichte Anaphylaxie	erholt

Serie B (Trockenbacillen Typus humanus).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. Typ. hum. emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
IVa	5,0	0,001	Y 35	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	tot in 4'
Va	5,0	—	Y 34	4,0	4,0	sehr leichte Sympt.	lebt

Serie C (Trockenbacillen Typus bovinus).

Ver- such No.	Tuberkelbacill. Typ. bov. emulgiert in	Immun- serum	No. des Tieres	Komplement- menge	Gift- dosis	Krankheitsverlauf	Ausgang
Ia	5,0	1,0	Y 29	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IIa	5,0	0,1	Y 31	4,0	4,0	sehr schwere Anaph.	tot in 4'
Va	5,0	—	Y 30	4,0	4,0	keine Symptome	lebt

Aus diesem Versuch ergibt es sich, daß sich sowohl aus Agarkulturen von Tuberkelbacillen als auch aus getrockneten Bakterien mit und ohne Beladung durch Ambozeptor Anaphylatoxin in tödlichen Mengen abspalten läßt.

Die Versuche mit der wiederholten Digerierung der beladenen Bakterien mit normalem Meerschweinchenserum (Versuchsreihe XIIa) liefern das interessante Resultat, daß die Versuchsröhrchen, die das erste Mal eine starke Giftdosis aufwiesen, bei der zweiten Abspaltung so gut wie unwirksam waren, und umgekehrt.

Im Versuch No. I, z. B. der Serie A, hatten wir eine intensive Giftabspaltung. Im Versuch No. Ia, war überhaupt davon nichts nachweisbar. Umgekehrt war das Verhalten im Versuch III und IIIa, andererseits.

Auch bei der Giftdarstellung aus Präzipitaten (Friedberger und Vallardi) hatte es sich ja ergeben, daß Präzipitate, die bei der ersten Digerierung mit Normalmeerschweinchenserum unwirksam waren, bei wiederholter Digerierung giftige Abgüsse lieferten.

In den beiden folgenden Versuchsreihen suchten wir die geringste Menge von Tuberkelbacillen zu ermitteln, aus der sich teils unter Einwirkung von Immunserum, teils ohne Immunserumbeladung eine tödliche Giftdosis gewinnen läßt.

Versuchsreihe XIII.

22. VII. Fallende Mengen Tuberkelbacillen von Glycerinagarkultur werden mit je 0,5 Antiserum „Höchst“ versetzt resp. 0,5 NaCl-Lösung. Eisschrank.

23. VII. Zentrifugieren, Waschen. Zusatz von je 4,0 Normalmeerschweinchenserum zu den Bodensätzen. 24 Stunden im Eisschrank.

24. VII. Zentrifugieren. Prüfung der Abgüsse. Tiere von 200 g.

Tabelle.

Ver- such No.	Kultur- menge	Anti- serum	Gift- dosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	3 Oesen	0,5	0,4	Y 52	sehr schwere Anaph.	erholt sich
II	1 Oese	0,5	4,0	Y 51	keine Symptome	lebt
III	0,5 „	0,5	4,0	Y 55	sehr schwere Anaph.	tot in 5'
IV	0,1 „	0,5	4,0	Y 57	schwere Anaphyl.	erholt sich

Ver- such No.	Kultur- menge	Anti- serum	Gift- dosis	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
V	0,01 Oese	0,5	4,0	Y 58	leichte Anaphylaxie	erholt sich
VI	0,001 „	0,5	4,0	Y 60	keine Symptome	lebt
VII	3 Oesen	—	4,0	Y 53	sehr schwere Anaph.	tot in 4'
VIII	1 Oese	—	4,0	Y 50	deutliche Anaphyl.	erholt sich
IX	0,5 „	—	4,0	Y 54	sehr schwere Anaph.	tot in 3'
X	0,1 „	—	4,0	Y 56	keine Symptome	lebt
XI	0,01 „	—	4,0	Y 59	„ „	lebt

Meerschweinchen Y 63 erhält Bodensatz von I: tot in 6 Stunden.

Meerschweinchen Y 62 erhält Bodensatz von III: tot in 7 Stunden.

Versuchsreihe XIV.

25. VII. Fallende Mengen einer Emulsion von Tuberkelbacillen, gewonnen durch Filtration von Bouillonmassenkulturen (Aronson) und in Filtrierpapier mit der Hand leicht getrocknet, werden mit je 1,0 Tuberkulose-Antiserum „Höchst“ resp. 1,0 physiologischer Kochsalzlösung versetzt. 24 Stunden in Eisschrank.

26. VII. Zentrifugieren, Waschen. Zusatz von je 4,0 Normalmeerschweinchenserum zu den Bodensätzen. 24 Stunden im Eisschrank.

27. VII. Zentrifugieren. Prüfung der Abgüsse. Giftdosis 4,0. Tiere von 200 g.

Tabelle.

Ver- such No.	Kulturmenge g	Anti- serum- menge	No. des Tieres	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	0,025	1,0	Y 81	sehr schwere Anaphylaxie	tot in 3 Min.
II	0,015	1,0	Y 83	„ „ „	erholt sich
III	0,005	1,0	Y 82	keine deutlich. Symptome	lebt
IV	0,00005	1,0	Y 84	0	lebt
V	0,025	—	Y 72	sehr schwere Anaphylaxie	tot in 3 Min.
VI	0,015	—	Y 73	„ „ „	erholt sich
VII	0,005	—	Y 74	„ „ „	tot in 3 Min.
VIII	0,0005	—	Y 75	sehr leichte Erscheinungen	lebt
IX	0,00005	—	Y 76	0	lebt

Kontrollen. Y 78 erhält 0,025 Tuberkelbacillen (die gleiche Bacillmenge wie in Versuch I und V) in 5,0 Kochsalzlösung und durch grobes Papier filtriert: keine Erscheinungen.

Ein Teil der Bodensätze wird gewaschen und je in 4,0 physiologischer Kochsalzlösung suspendiert.

Tier No.	Bodensatz No.	Resultat
86	I	0
79	VII	0
80	VIII	0

Aus der Versuchsreihe XIII ergibt es sich, daß 0,5 bis 0,1 Oese die Grenzdosis darstellen.

In der Serie XIV liegt die Grenzdosis etwa bei 5 mg feuchter Bakterienmasse.

Auffallend erscheint es auf den ersten Blick, daß die Abspaltung unter Verwendung von mit Immunserum beladenen Bakterien annähernd den gleichen quantitativen Verhältnissen unterliegt wie bei Verwendung von nichtbeladenen Bakterien und Meerschweinchenserum.

Vielleicht ist es darauf zurückzuführen, daß das betreffende ältere Immunserum nicht sehr wirksam war.

Denn in den in der Arbeit mit A. Schütze angestellten Versuchen (s. p. 431) haben wir mit einem frisch bezogenen Immunserum Höchst die Beobachtung gemacht, daß ein Ueberschuß von Immunserum beim Tuberkelbacillus ebensogut wie bei anderen Bakterien für den Giftnachweis nicht förderlich ist.

Zur Orientierung haben wir dann noch einige Versuche mit anderen Mikroorganismen, so mit Hefe und mit Schimmelpilzen, unternommen.

Ueber die Versuche mit Hefe erfolgt demnächst eine ausführliche Veröffentlichung von Friedberger und Ito.

Für die erfolgreiche Abspaltung aus Schimmelpilzen mag der nachstehende Versuch als Beleg dienen.

Versuchsreihe X V.

27. VII. Eine kleine Masse *Aspergillus fumigatus* von feuchtem Brot, zusammengeballt etwa in der Größe einer Erbse, wird mit 4,0 normalem Meerschweinchenserum versetzt. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Eisschrank wird zentrifugiert und die obenstehende Flüssigkeit dem Meerschweinchen No. 89, 200 g, injiziert.

Typische schwere Anaphylaxie. Tod in 5 Minuten.

Zusammenfassung.

Die Arbeit (Vorläufige Mitteilung Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32) enthält Versuche über die Darstellung des Anaphylatoxins aus *Vibrio Metschnikoff*, *Typhusbacillus*, *Bacillus Prodigiosus*, *Tuberkelbacillus*, *Aspergillus fumigatus*.

Es wird gezeigt, daß die Abspaltung des akut wirkenden Giftes unter Verwendung lebender und abgetöteter Bakterien mit und ohne Beladung mit Immunserum durch Normal-

meerschweinchenserum gelingt, jedoch niemals bei Verwendung von inaktiviertem Normalmeerschweinchenserum.

Bei einer allzu starken Beladung mit Immunambozeptor wurde eine geringere Giftigkeit der Abgüsse beobachtet.

Bei wiederholter Behandlung der Bakterien mit Normalmeerschweinchenserum wurde — ähnlich wie bei den Eiweißpräzipitaten — (Friedberger und Vallardi) eine Giftigkeit in den Fällen erzielt, in denen die erste Digerierung mit Komplementserum wirkungslos gewesen war — und umgekehrt.

Es wurden für *B. Prodigiosus* und *Tuberkelbacillus* bei einer bestimmten Versuchsanordnung die für die Bildung des akut wirkenden Anaphylatoxins nötigen Grenzdosen bestimmt.

III. Weiteres zur Frage der Anaphylatoxinbildung aus Mikroorganismen.

Von

E. Friedberger und **Z. Szymanowski,**

Assistent am Veterinärinstitut
der Universität Krakau.

Die nachstehenden Versuche stellen eine Fortsetzung der in der vorhergehenden Arbeit publizierten dar. Es galt, folgende 5 Fragen nach Möglichkeit zu entscheiden:

1) Bestehen bezüglich der Anaphylatoxinabspaltung beim Meerschweinchen zwischen zwei Bakterienarten verschiedener Formenkreise und verschiedener Virulenz Unterschiede?

2) Sind quantitative Differenzen vorhanden in der Giftabspaltung aus einem und demselben Mikroorganismus zwischen lebenden und durch Einwirkung von 100° abgetöteten Bakterien?

3) Wie verhält sich die Intensität der Anaphylatoxinbildung bei Variierung der Normalmeerschweinchenserummengemenge und der Menge des Bakterienantigens?

4) Welchen Einfluß haben variable Immunserummengen auf die Giftabspaltung?

28*

5) Welchen Einfluß hat die Zeit der gegenseitigen Einwirkung der in Betracht kommenden Komponenten auf die Abspaltung des Giftes?

Bezüglich der Technik sei auf die Einleitung und die vorausgegangene Arbeit von Friedberger und Goldschmid verwiesen.

Eine Abweichung fand nur insofern statt, als wir die Beladung der Bakterien mit dem Immunserum zunächst einige Stunden bei 37°, die übrige Zeit bei Zimmertemperatur, nicht mehr im Eisschrank, erfolgen ließen. Auch die Einwirkung des Komplementes auf die beladenen resp. unbeladenen Bakterien dauerte unter den gleichen Bedingungen gleich lang.

So war es wenigstens bei unseren ersten Versuchen. Nachdem wir später gefunden haben, daß eine intensive Giftabspaltung schon unter gewissen Bedingungen viel früher erfolgt, wurde die Technik in entsprechender Weise geändert. Näheres ist in den einzelnen Versuchen mitgeteilt.

Die Prüfung des Anaphylatoxins geschah ebenso wie in der vorherigen Arbeit angegeben worden ist, durchgehend an Meerschweinchen von ca. 200 g Gewicht bei intravenöser Injektion.

1. Vergleichende Untersuchungen über die Anaphylatoxinbildung aus zwei verschiedenen Bakterienarten.

Wir benutzten zu diesen Versuchen den *Vibrio Metschnikoff* einerseits und den *Bacillus prodigiosus* andererseits, also zwei Bakterienarten verschiedenen Formenkreises und verschiedener Virulenz¹⁾. Ueber das nähere Verhalten der beiden Bacillenarten bezüglich der Pathogenität usw. verweisen wir auf die vorausgehende Arbeit, bei der die gleichen Stämme benutzt wurden.

Die folgenden Versuche zeigen, daß unter Verhältnissen, unter denen die Abspaltung einer tödlichen Giftdosis aus dem *Prodigosusbacillus* regelmäßig gelingt, der *Vibrio Metschnikoff* keinen akut tödlichen Abguß liefert.

1) Obwohl der *Bac. prodigiosus* sicher ein Saprophyt ist, so vermag er natürlich doch bei Einspritzung größerer Dosen (wie auch von anderen schon wiederholt hervorgehoben wurde) im Organismus zu haften und sich zu vermehren.

Versuchsreihe 1 (7. X. 10).

Mehrmals je 2 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* und von *Vibrio Metschnikoff* werden in je 5 ccm frischen Meerschweinchenserums aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Nach scharfem Zentrifugieren werden bestimmte Mengen der Abgüsse intravenös eingespritzt.

No.	Kultur	Giftosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	3 ccm	S 20	200	schwere Anaphyl.	Tod in 3 Min.
II	"	4 "	S 21	200	Dyspnoe, Erholung	Tod in der Nacht
III	Vibrio	5 ccm	S 22	200	ohne Symptome	Tod in der Nacht
IV	"	5 "	S 23	200	" "	" " " "

Versuchsreihe 2 (8. X. 10).

Mehrmals je 2 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* und von *Vibrio Metschnikoff* werden in je 5 ccm frischen Meerschweinchenserums aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Abgüsse nach scharfem Zentrifugieren intravenös eingespritzt.

No.	Kultur	Giftosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	4 ccm	S 24	200	schwere Anaphyl.	Tod in 3 Min.
II	"	4,5 "	S 25	200	" "	Tod in 3 Min.
III	Vibrio	4,5 ccm	S 26	200	ohne Symptome	Tod in der Nacht
IV	"	4,5 "	S 27	200	" "	" " " "

In den beiden folgenden Versuchsreihen haben wir die minimale tödliche Dosis des Komplementabgusses nach Kontakt mit *Vibrio* einerseits und mit *Prodigiosus* andererseits zu bestimmen versucht.

Sie liegt beim *Prodigiosus* bei 3,0, während vom *Vibrio* die doppelte Dosis (Versuchsreihe 4, Vers. VIII) keine deutliche Wirkung ausübte.

Versuchsreihe 3 (14. XI. 10).

Je 15 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* und von *Vibrio Metschn.*, aufgeschwemmt in 0,5 ccm NaCl¹⁾, werden mit 8 ccm frischen Meerschweinchenserums versetzt, 2 Stunden bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Die Giftigkeit der scharf abzentrifugierten Abgüsse wird bei intravenöser Einführung ausgewertet.

1) NaCl bedeutet hier stets 0.85-proz. (physiologische) Kochsalzlösung.

No.	Kultur	Gift-dosis	No. des Tieres	Ge-wicht	Krankheits-verlauf	Ausgang
I	Prodig.	1 ccm	S 173	220	keine Anaphyl.	lebt am anderen Tage
II	"	2 "	S 174	200	" "	Tod am anderen Tage
III	"	3 "	S 175	200	schwere Anaph.	Tod in 4 Minuten
IV	Vibrio	3 ccm	S 176	220	keine Anaphyl.	Tod über Nacht
V	"	4 "	S 177	220	" "	" " "

Versuchsreihe 4 (16. XII. 10).

Je 15 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* zweimal, von *Vibrio Metschn.* einmal in je 3 ccm NaCl aufgeschwemmt. Eine *Prodigiosus*-aufschwemmung 2 Minuten auf 100° erhitzt, das dabei entstandene Koagulum in der Schüttelmaschine fein verteilt. Die andere *Prodigiosus*-sowie die *Vibrio*-aufschwemmung roh belassen. — Zu jeder Aufschwemmung 12 ccm frisches Meerschweinchen Serum zugesetzt. 2 Stunden bei 37°, 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Die Giftigkeit der Abgüsse ausgewertet.

No.	Kultur	Gift-dosis	No. des Tieres	Ge-wicht	Krankheits-verlauf	Ausgang
I	Prodig. roh	3 ccm	S 178	210	schwere Anaph.	Tod in 4 Minuten
II	" "	2 "	S 179	220	keine Anaph.	lebt am and. Morg.
III	" "	2 "	S 180	220	" "	" " " "
IV	Prodig. gekocht	3 ccm	S 181	200	kein deutlicher Krampf	Tod in 3 Stunden
V	" "	4 "	S 182	220	schwere Anaph.	Tod in 3 Minuten
VI	Vibrio	4 ccm	S 183	220	keine Anaph.	Tod am and. Morg.
VII	"	5 "	S 184	200	" "	" " " "
VIII	"	6 "	S 185	200	" "	" " " "

Alle diese Versuche, unter Verwendung gleicher Bakterienmengen und gleicher Dosen derselben Serummischung angestellt ergeben, daß die Bedingungen für die Giftabspaltung aus zwei verschiedenen Bakterienarten offenbar nicht identische sind.

Daß an sich die Giftbildung auch aus dem *Vibrio Metschni*-koff gelingt, zeigen die positiven Versuche der vorigen Arbeit (die allerdings mit größeren Bakterienmengen angestellt waren) und eine Reihe weiterer Versuche mit dem gleichen *Vibrio*.

Wir dürfen annehmen, daß für jede Bakterienart, entsprechend der spezifischen, differenten Beschaffenheit ihres Eiweißes, die Bedingungen für die Anaphylatoxinbildung verschieden liegen. Inwieweit da die Beschaffenheit des jeweiligen Serums (Gehalt an Normalambozeptoren) in Frage kommt,

inwieweit Beziehungen zu dem morphologischen Verhalten (Kokken, Vibrionen etc.), der Virulenz, der Lysierbarkeit usw. bestehen, müssen wir vorerst noch offen lassen. Wir wissen bis heute nur, daß die Anaphylatoxinbildung aus Stäbchen, Kokken, Vibrionen, Schimmelpilzen, Protozoen, aus virulenten und avirulenten Bakterien, aus Saprophyten und Parasiten gelingt; ob feinere quantitative Differenzen bestehen, ist noch nicht untersucht. Wir hatten früher mit Rücksicht auf die bequeme Abspaltbarkeit des Anaphylatoxins gerade aus dem *Prodigiosus bacillus* die Vermutung ausgesprochen, daß darin vielleicht das Wesen des Saprophytismus mit begründet sein könne. Wir wissen aber andererseits bei den vorstehenden Versuchen nicht, ob die Ergebnisse mit *Vibrio* deshalb negativ ausfielen, weil noch kein Gift gebildet wurde oder weil unter den gewählten Bedingungen der Abbau schon über die giftige Stufe hinausgegangen war. (Die Versuche von Friedberger und Goldschmid, in denen die Giftbildung bei Verwendung größerer Antigenmengen und bei Eisschrantemperatur gelang, sprechen sogar in diesem Sinne, ebenso die Versuche von Neufeld und Dold.)

Aber jedenfalls glauben wir auch auf Grund der Versuche mit Tuberkelbacillen (XII. Versuchsreihe der vorigen Arbeit), in denen die Giftabspaltung aus Bakterien verschiedenster Provenienz und Virulenz (in Versuchsreihe XIII ganz avirulente alte Laboratoriumskulturen; in Versuchsreihe XIV virulente Kultur Typus humanus) scheinbar gleich leicht gelang, die Bedeutung der Virulenz für die Intensität der Giftabspaltung nicht allzu hoch anschlagen zu sollen.

Es ist ja nach unserer Auffassung über das Wesen der Giftbildung verständlich, daß die Virulenz als eine vitale Eigenschaft des Mikroorganismus hinter der Bedeutung der chemischen Struktur der Leibessubstanz bei der Anaphylatoxinbildung zurücktritt.

Es ist wohl denkbar, daß innerhalb einer und derselben Bakterienart eine virulentere Rasse schlechter für die Anaphylatoxinbildung sich eignet als eine avirulente, während andererseits aus irgend einem saprophytischen Coccus sich das Gift wieder schlechter abspalten lassen kann als aus einem hochvirulenten *Vibrio*.

Ueber Untersuchungen über diese noch unklaren Fragen, die uns vielleicht auch weitere Einblicke in das Wesen der Virulenz gestatten, behalten wir uns vor, später zu berichten.

2. Der Unterschied in der Giftabspaltung aus gekochten und rohen Bakterien.

Auch diese Versuche wurden mit *Prodigiosus* und *Vibrio Metschnikoff* angestellt.

Im nachstehenden folgt zunächst ein Versuch mit *Prodigiosus*, bei dem ein deutlicher Unterschied zwischen gekochten und ungekochten Bacillen nicht hervortritt, aber jedenfalls zeigt sich hier schon, daß aus den gekochten Bakterien das Gift sich nicht weniger gut abspalten läßt als aus ungekochten.

Versuchsreihe 5 (18. XII. 10).

Es werden 30 Oesen einer 24-stündigen Massenkultur von *B. prodigiosus* in 4 ccm NaCl aufgeschwemmt. Die Hälfte wird auf 10 ccm Volum durch NaCl-Zusatz gebracht, 15 Minuten im Dampftopf erhitzt, zentrifugiert und durch NaCl-Zusatz wieder auf 2 ccm Volum gebracht. Die andere Hälfte wird roh belassen. Zu beiden Portionen wird je 8 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt, 2 Stunden bei 37°, 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Giftigkeit der scharf abzentrifugierten Abgüsse wird ausgewertet.

No.	Kultur	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig. roh	3 ccm	S 197	220	keine Anaph.	Tod am and. Morg.
II	„ „	4 „	S 198	220	schwere Anaph.	Tod in 3 Minuten
III	Prodig. gekocht	3 ccm	S 199	210	keine Anaph.	Tod am and. Morg.
IV	„ „	3,5 „	S 200	220	schwere Anaph.	Tod in 2 Minuten

Dagegen zeigen die beiden folgenden Versuchsreihen eine etwas leichtere Abspaltung des Giftes aus gekochten *Prodigiosus*bakterien sowohl in bezug auf die minimale tödliche Dosis des Abgusses unter sonst gleichen Bedingungen als auch bezüglich der minimalen Zeit für die Anaphylatoxinbildung.

Wir sehen, daß in der einen Versuchsreihe (6) die tödliche Dosis des Abgusses von rohen Bakterien bei 3,0 (Grenzdosis, einmal tödlich, einmal nicht), von gekochten bei 2,0 liegt.

In der anderen Versuchsreihe (7) mit Variierung der Zeit ergibt es sich, daß aus gekochten Bakterien schon nach 10 Minuten eine akut tödliche Dosis sich gewinnen läßt, während mit dem Abguß von ungekochten Bakterien erst nach 30 Minuten die gleiche Wirkung zu erhalten ist.

Versuchsreihe 6 (17. XII. 10).

Es werden zweimal je 13 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* in je 2 ccm NaCl aufgeschwemmt. Die eine Portion wird mit 8 ccm NaCl verdünnt, zweimal 5 Minuten lang im Dampftopf erhitzt und dann zentrifugiert. Durch Zusatz von NaCl wird das ursprüngliche Volum wieder hergestellt. Die partiell verklumpten Bakterien werden durch 15 Minuten langes Schütteln gleichmäßig verteilt. Die andere Portion wird roh belassen. Zu jeder Portion (Volum 2 ccm) wird 8 ccm Komplement zugesetzt. Nach 1½ Stunden Aufenthalt im Brutschrank und 18 Stunden bei Zimmertemperatur wird die Giftigkeit der Abgüsse ausgewertet.

No.	Kultur	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig. roh	3 ccm	S 188	220	schwache Anaph.	Tod am and. Morg.
II	" "	3 "	S 189	190	schwere Anaph.	Tod in 4 Minuten
III	Prodig. gekocht	3 ccm	S 190	180	schwere Anaph.	Tod in 4 Minuten
IV	" "	2 "	S 191	190	" "	" " 3 "
V	" "	1 "	S 192	175	keine Anaphyl.	Tod am and. Morg.

Versuchsreihe 7 (30. I. 11).

Es wird eine Emulsion von *B. prodigiosus* (24-stündige Agarkultur) in NaCl bereitet, enthaltend 5 Oesen pro 1 ccm und in Röhrchen zu 1 ccm verteilt. Die Hälfte der Röhrchen wird wiederholt aufgeköcht. Jedes Röhrchen wird mit 2,5 ccm frischen Meerschweinchenserums beschickt, bei Zimmertemperatur belassen und nach einer bestimmten Zeit zentrifugiert. Der Abguß wird intravenös injiziert.

No.	Kultur	Dauer der Gift-abspaltung	Gift-dosis ccm	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig. roh	10 Min.	3,5	S 292	170	Krämpf erst n. 25' beginnend	Tod n. 30 Min.
II	" "	30 "	3,5	S 290	200	schwere Anaph.	" " 3 "
III	" "	45 "	3,5	S 294	170	" "	" " 13 "
IV	" "	60 "	3,5	S 296	170	" "	" " 3 "
V	Prodig. gekocht	10 Min.	3,5	S 291	170	schwere Anaph.	Tod n. 3 Min.
VI	" "	30 "	3,5	S 289	200	" "	" " 2 "
VII	" "	45 "	3,5	S 293	170	leichte Anaph.	Tod am and. Tage
VIII	" "	60 "	3,5	S 295	170	schwere Anaph.	Tod n. 1 Min.

Viel deutlicher sind, wie schon hervorgehoben, die Unterschiede bei einem Bakterium, aus dem die Abspaltung des Giftes an sich schwerer gelingt, wie dem *Vibrio Metschnikoff*.

Das zeigt die folgende Versuchsreihe 8, in der aus den rohen Bakterien unter den gewählten Bedingungen eine krankmachende Dosis überhaupt nicht erzielt wurde, während aus der gekochten Quote nach $2\frac{1}{2}$ Stunden eine tödliche Dosis gebildet war.

Versuchsreihe 8 (17. II. 11).

Es werden 10 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *Vibrio Metschnikoff* in 6 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die Hälfte wird mehrmals aufgekocht und in 3 Röhrchen verteilt. Die andere Hälfte wird ebenfalls in 3 Röhrchen verteilt. Nach Zusatz von je 4 ccm frischen Meerschweinchen-serums kommen die Röhrchen auf 2 Stunden in den Brutschrank und dann in den Eisschrank. Die Abgüsse werden zu verschiedenen Zeiten abzentrifugiert und auf Giftigkeit untersucht.

No.	Kultur	Dauer der Giftabspaltung	Gift-dosis	No. des Tieres	Ge-wicht	Krankheits-verlauf	Ausgang
I	<i>Vibrio</i> , roh	$2\frac{1}{2}$ Std.	5 ccm	S 308	180	keine Anaphyl.	
II	" "	5 "	5 "	S 306	180	" "	
III	" "	18 "	5 "	S 310	200	" "	
IV	<i>Vibrio</i> , gekocht	$2\frac{1}{2}$ Std.	5 ccm	S 309	200	schwere Anaph.	Tod in 3'
V	" "	5 "	5 "	S 307	180	deutliche "	Erholung
VI	" "	18 "	5 "	S 311	200	" "	Erholung

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß die Giftbildung bei Verwendung von auf 100° erhitzten Bakterien sicher ebensogut, wahrscheinlich noch etwas besser gelingt als mit rohen.

3. Die Intensität der Anaphylatoxinbildung unter Variierung der Dosen von Komplement und Antigen.

Die Versuche wurden ausschließlich mit dem Typhusstamm Gießen angestellt. Der folgende Versuch zeigt uns zunächst die Grenzdosis von Bakterien, die bei konstanten Mengen von Komplement (3,0) zur Bildung einer tödlichen Giftdosis ausreichen. Es ist das innerhalb der von uns gewählten Bedingungen eine Menge von 2—3 Oesen feuchter Schrägagarkultur (Oese à ca. 2 mg Substanz).

Versuchsreihe 9 (20. XI. 10).

Von einer 48-stündigen Agarkultur von *Bac. typhi* abdom. (Stamm Gießen) werden Aufschwemmungen in 1 ccm NaCl-Lösung hergestellt, enthaltend 24, 16, 8, 4, 2 und 1 Oese. Nach 2-stündiger Erhitzung auf 60° wird jedes Röhrchen mit 3 ccm frischen Meerschweinchenserums beschickt auf 1 Stunde in den Brutschrank gebracht und dann 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die scharf abzentrifugierten Abgüsse werden intravenös eingespritzt.

No.	Kultur	Bakterienmenge	Komplementmenge	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	<i>B. typhi</i>	24 Oesen	3 ccm	3 ccm	S 98	200	schwere Anaph.	Tod in 2'
II	"	4 "	3 "	3 ccm	S 101	180	schwere Anaph.	Tod in 5'
III	"	2 "	3 "	3 "	S 100	200	starke Anaphyl.	Erholung, bleibt leben
IV	"	1 Oese	3 "	3 "	S 99	200	keine Anaphyl.	" "

Die Verhältnisse bei Variierung der Komplementmenge unter Verwendung konstanter Antigenmengen zeigt der folgende Versuch. Geringere Mengen als 1,0 Komplement sind nicht ausreichend. Es zeigt hier der Versuch VI dieser Reihe, daß ein Ueberschuß von Antigen ungünstig wirkt.

Versuchsreihe 10 (1. XII. 10).

Von einer Reihe von 48-stündigen Agarkulturen von *Bac. typhi* abdom. wurde mit der Oese eine Reihe von Aufschwemmungen hergestellt, enthaltend 4 resp. 24 Oesen in 1 ccm NaCl-Lösung. Die Aufschwemmungen wurden 1 Stunde bis 60° erhitzt. Die Röhrchen wurden dann mit wechselnden Mengen von frischem Meerschweinchenserum beschickt, mit NaCl-Lösung auf gleiches Volumen gebracht und 2 Stunden bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Prüfung der Abgüsse wie üblich.

No.	Kultur	Bakt.-menge	Kompl.-menge	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	<i>B. typhi</i>	4 Oesen	4 ccm	4 ccm	S 102	200	schwere Anaph.	Tod in 4 Minut.
II	"	4 "	2 "	4 "	S 103	180	" "	Tod in 2 Minut.
III	"	4 "	1 "	4 "	S 104	190	Anaph. nach 8'	Tod nach 13 Min.
IV	"	4 "	0,5 "	4 "	S 105	190	keine Anaphyl.	Tod in der Nacht
V	"	4 "	0,1 "	4 "	S 106	200	" "	" " " "
VI	"	24 "	2 "	2 "	S 107	200	" "	lebt am and. Tage

In völliger Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der Versuche der vorhergehenden Arbeit von Friedberger und

Goldschmid und Versuch VI der vorigen Reihe ließ sich nun auch für den Typhusbacillus in weiteren Versuchen wiederum nachweisen, daß bei Verwendung zu großer Mengen von Antigen der Abguß ungiftig ist.

Versuchsreihe 11 (5. XII. 10).

11 Agarkulturen, 3 Tage alt, von *Bac. typhi* abdom. wurden in 11 ccm NaCl-Lösung abgeschwemmt und 2 Stunden bei 60° erhitzt. Eine Kontrollaussaat bestätigte die vollkommene Sterilisierung. Die Aufschwemmung wurde zentrifugiert, gewaschen und 2 Stunden im Schüttelapparat fein verteilt. Aus der nunmehr ganz homogenen Emulsion wurden 7 Proben von verschiedener Tropfenzahl in einzelne Röhrchen abgemessen. Mit derselben Pipette wurde durch Zusatz von NaCl überall das gleiche Volumen erzielt. Die Röhrchen, beschickt mit je 2 ccm frischen Meerschweinchenserums, blieben 2 Stunden im Brutschrank und dann 18 Stunden bei Zimmertemperatur. Prüfung der Abgüsse wie üblich.

No.	Kultur	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- dosis	No. des Tieres	Ge- wicht	Krankheits- verlauf	Ausgang
I	B. typhi	40 Trpf.	2 ccm	3,5 ccm	S 112	200	keine Anaph.	lebt
II	"	20 "	2 "	3,5 "	S 113	200	" "	lebt > 3 Tage
III	"	10 "	2 "	3,5 "	S 119	190	starke Anaph.	Erholung, Tod in der Nacht
IV	"	5 "	2 "	3,5 "	S 114	200	" "	Tod in 6 Minut.
V	"	3 "	2 "	3,5 "	S 118	200	" "	Erholung, Tod in der Nacht
VI	"	2 "	2 "	3,5 "	S 117	220	keine Anaph.	lebt
VII	"	1 "	2 "	3,5 "	S 116	200	" "	lebt

Viel komplizierter gestalten sich nun die Verhältnisse, wenn wir sowohl die Menge des Antigens wie die des Komplementserums innerhalb einer und derselben Versuchsreihe variieren. Das zeigen die beiden folgenden Versuche.

Versuchsreihe 12 (29. XI. 10).

12 Agarkulturen, 48 Stunden alt, von *B. typhi* abdom. werden mit NaCl in dem Verhältnis abgeschwemmt, daß 3 Tropfen der Emulsion etwa 2 Oesen¹⁾ entsprechen. Mit der 1 Stunde bei 60° abgetöteten Emulsion wird eine Reihe von Röhrchen mit verschiedener Zahl von Tropfen beschickt und es wird frisches Meerschweinchenserum in verschiedener Menge zugesetzt; überall gleiches Volumen mit NaCl. Nach 1½-stündigem Verweilen im Brutschrank und 18 Stunden bei Zimmertemperatur werden die Abgüsse in üblicher Weise geprüft.

1) Die Oese, mit der hier die Vergleichsemulsion hergestellt wurde war größer als die sonst benutzte.

No.	Kultur	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- dosis	No. des Tieres	Ge- wicht	Krankheits- verlauf	Ausgang
I	B. typhi	12 Tropf.	4 ccm	4 ccm	S 86	230	schwere Anaph.	Tod in 6 Min.
II	"	6 "	4 "	4 "	S 87	200	" "	Tod in 3 Min.
III	"	4 "	4 "	4 "	S 89	220	" "	Tod in 3 Min.
IV	"	2 "	4 "	4 "	S 90	240	" "	Tod in 3 Min.
V	"	2 "	2 "	2 "	S 91	200	" "	Tod in 7 Min.
VI	"	2 "	1 "	1 "	S 92	180	keine Anaphyl.	
VII	"	0,2 "	1 "	1 "	S 93	180	" "	
VIII	"	2 "	6 "	4 "	S 94	190	schwere Anaph.	Tod in 3 Min.
IX	"	"	"	2 "	S 95	190	" "	Tod in 7 Min.

Versuchsreihe 13 (21. XI. 10).

Es wird aus 12 Agarkulturen von *B. typhi* abdom., 48 Stunden alt, eine Emulsion, entsprechend ca. 1 Oese in 1 Tropfen Emulsion, hergestellt. Verschiedene Mengen der nicht abgetöteten Emulsion werden mit wechselnden Mengen frischen Meerschweinchenserums versetzt; 1 Stunde bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Die Abgüsse werden wie üblich geprüft.

No.	Kultur	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- dosis	No. des Tieres	Ge- wicht	Krankheits- verlauf	Ausgang
I	B. typhi	5 Tropf.	4 ccm	3,5 ccm	S 74	210	leichte Anaph.	lebt n. 6 St. ¹⁾
II	dgl.	5 "	3 "	5 "	S 80	200	keine Anaphyl.	lebt nach 6 St.
	"	5 "	2 "					
III	"	5 "	1 "	0,9 "	S 79	200	leichte Anaph.	lebt nach 6 St.
IV	"	3 "	4 "	3,0 "	S 75	200	schwere Anaph.	Tod in 3 Min.
	"	3 "	3 "					
	"	3 "	2 "					
V	"	3 "	1 "	0,9 "	S 78	200	keine Anaphyl.	lebt nach 6 St.
VI	"	1 "	4 "	3,0 "	S 76	210	schwere Anaph.	Tod in 3 Min.
	"	1 "	3 "					
	"	1 "	2 "					
VII	"	1 "	1 "	0,9 "	S 77	200	schwere Anaph.	Tod in 6 Min.

Besonders interessant scheint die letztere der beiden vorstehenden Versuchsserien (Versuchsreihe 13).

Wir sehen, daß bei einer Antigenmenge von 5 Tropfen in den Versuchen I—III selbst große Mengen von Komplement keine nennenswerte Giftabspaltung herbeiführen. Bei Verwendung kleinerer Antigenmengen in den Versuchen IV und V gelingt in dem Versuch IV die Bildung einer tödlichen Gift-

1) Aus äußeren Gründen konnten die Tiere später nicht mehr beobachtet werden.

dosis wenigstens unter Verwendung der maximalen Komplementmenge, die im Versuch I ohne Wirkung war.

Wenn wir aber mit der Antigenmenge noch weiter heruntergehen, so sehen wir, daß auch minimale Komplementmengen wirksam sind, Dosen, die mehr als 4mal geringer sind, als jene, welche bei der 5-fachen Antigendosis versagt haben.

4. Einfluß der Immunserummengen auf die Giftbildung.

In Uebereinstimmung mit denen von Friedberger und Goldschmid ergeben diese Versuche, daß ein Ueberschuß von Immunserum für den Nachweis des Giftes nicht förderlich ist. Das zeigt sehr eklatant schon der folgende Versuch, in welchem überhaupt nur unter der Einwirkung von Normalserum nach 24 Stunden Gift nachweisbar war, nicht aber in den Proben, in denen die Giftabspaltung unter Einwirkung von Immunserum versucht wurde.

Versuchsreihe 14 (14. XI. 10).

Von einer 24-stündigen Agarkultur des *B. prodigiosus* werden je 3 Oesen aufgeschwemmt a) im inaktiviertem Antiprodigosus-Kaninchenserum Z. 16 (Agglutinationstiter = $\frac{1}{200}$), b) in demselben Serum verdünnt 1:100, c) in demselben Serum verdünnt 1:1000. Nach 1 Stunde Fixation im Brutschrank wurden die Aufschwemmungen zentrifugiert, gründlich gewaschen und mit je 2 ccm frischen Meerschweinchenserums versetzt. Zur Kontrolle wurde eine Aufschwemmung von 3 Oesen *Prodigosus* unbeladen mit 2 ccm frischem Meerschweinchenserum angesetzt. Nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank und 18 Stunden bei Zimmertemperatur wurden die Abgüsse injiziert.

No.	Kultur	Bakt.-menge	Immunserum	Kompl.-menge	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	3 Oes.	$\frac{1}{1}$	2 ccm	2 ccm	S 52	200	keine Anaphyl.	
II	Prodig.	3 Oes.	$\frac{1}{100}$	2 „	3,5 „	S 54	200	keine Anaphyl.	
	Prodig.	3 Oes.	$\frac{1}{1000}$	2 „					
III	Prodig.	3 Oes.	—	2 „	2 „	S 53	190	schwere Anaph.	Tod in 3 Min.

Ein ganz analoges Resultat ergibt der folgende Versuch, in welchem der Komplementabguß von stark mit Immunserum beladenen Bakterien in der Dosis von 4,0, von schwach beladenen bereits in der Dosis von 2,5 ccm akut tödlich wirkte.

Versuchsreihe 15 (11. I. 11).

Von einer Reihe von 24 Stunden alten Agarkulturen des *B. prodigiosus* wird eine Emulsion von 35 Oesen in 4 ccm NaCl bereitet. Die eine Hälfte (A) wird mit 2 ccm Antiprodigiosus-Kaninchenserum S. 4 (Agglutinationstiter $\frac{1}{1000}$) und 6 ccm NaCl versetzt, 30 Minuten im Brutschrank belassen, zentrifugiert, dann noch zweimal mit derselben Menge Immunsrum in derselben Weise beladen, gründlich gewaschen und 15 Minuten geschüttelt (zwecks gleichmäßiger Verteilung des Bakterienmaterials). Die zweite Hälfte (B) wurde nur einmal mit demselben Serum in der Verdünnung $\frac{1}{100}$ beladen.

Beide Portionen werden mit je 10 ccm frischem Meerschweinchenserum beschickt, $1\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Die Giftigkeit der Abgüsse wird wie üblich ausgewertet.

No.	Kultur	Bakt.-menge	Beladung	Kompl.-menge	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	17 $\frac{1}{2}$ Oesen	stark	10 ccm	3 ccm	S 222	190	deutl. Anaphyl.	Erhol., Tod a. a. Morg.
II					3,5 „	S 223	200	keine Anaphyl.	Tod am andern Morg.
III					4 „	S 224	200	schwere Anaph.	Tod in 5 Min.
IV	Prodig.	17 $\frac{1}{2}$ Oesen	schwach	10 ccm	3 „	S 219	190	schwere Anaph.	Tod in 4 Min.
V					2,5 „	S 220	190	„ „	Tod in 3 Min.
VI					2 „	S 221	190	keine Anaphyl.	Tod am andern Morg.

Die Versuche ergeben, daß bei Beladung der Bakterien mit einem Ueberschuß von Immunsrum kein akut tötendes Anaphylatoxin nach ca. 20 Stunden¹⁾ nachzuweisen ist, während mit geringen Mengen oder ohne Immunsrum die Abgüsse akut giftig wirken (Komplementablenkung ist als Ursache deshalb auszuschließen, weil das überschüssige Immunsrum durch Waschen entfernt war).

Eine Reihe weiterer Versuche, die ganz in demselben Sinne verliefen, bei denen aber zugleich die Zeit variiert wurde, folgen nunmehr in dem nachstehenden Abschnitt.

5. Einfluß der Zeit auf die Giftbildung.

Schon aus der Arbeit von Friedberger und Vallardi (diese Zeitschr., Bd. 7, Heft 1/2) und aus der vorigen Arbeit

1) Damit ist aber natürlich keineswegs gesagt, daß nicht zu früherer Zeit Gift vorhanden gewesen wäre. Die nachstehenden Zeitversuche sprechen sogar in diesem Sinn.

hat sich ergeben, daß die Giftbildung insofern eine Funktion der Zeit darstellt, als allmählich aus dem Eiweiß sich das intermediäre giftig wirkende Spaltprodukt bildet, und dieses seinerseits wiederum in eine ungiftige Verbindung abgebaut wird.

Sehr eklatant zeigt diese Verhältnisse die folgende Versuchsreihe unter Anwendung einer Kultur des *Staphylococcus pyogenes aureus*. Es ergibt sich, daß die Giftabspaltung unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen unter Einwirkung von Normalmeerschweinchenserum erst nach 2 Stunden eintritt und nach 24 Stunden bereits abgeklungen ist. Zugleich zeigt dieser Versuch, daß, wie mit dem *Prodigiosus*, auch mit dem *Staphylococcus* der Nachweis des Giftes bedeutend leichter gelingt als unter sonst gleichen Bedingungen, vor allem unter gleichen Mengenverhältnissen, mit dem *Vibrio Metschnikoff*, bei dem in dieser Versuchsreihe wiederum überhaupt kein giftiger Abguß erzielt wurde.

Versuchsreihe 16 (18. I. 11).

Von je einer Reihe 24-stündiger Agarkulturen des *Staphyloc. pyogenes* und *Vibrio Metschnikoff* wird eine Reihe von Emulsionen bereitet, die je 4 Oesen in 0,5 ccm NaCl enthalten. Jede Emulsion wird mit 2,5 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt. Die Röhrchen bleiben 1 Stunde bei 37°, später bei Zimmertemperatur. Die Prüfung der Abgüsse erfolgt zu verschiedenen Zeiten.

No.	Kultur	Bakt.-menge	Kompl.-menge	Abspaltzeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Staph.	4 Oes.	2,5 ccm	30 Min.	3 ccm	S 245	160	keine Anaphyl.	lebt am andern Tage
II	"	4 "	2,5 "	1 Std.	3 "	S 247	160	" "	" "
III	"	4 "	2,5 "	2 Std.	3 "	S 249	160	schwere Anaph.	Tod nach 3 " Min. "
IV	"	4 "	2,5 "	24 Std.	3 "	S 251	180	keine Anaphyl.	lebt am andern Tage
V	Vibr.M.	4 "	2,5 "	30 Min.	3 "	S 246	160	keine Anaphyl.	lebt am andern Tage
VI	"	4 "	2,5 "	1 Std.	3 "	S 248	160	" "	" " " "
VII	"	4 "	2,5 "	2 Std.	3 "	S 250	160	" "	" " " "
VIII	"	4 "	2,5 "	24 Std.	3 "	S 252	200	" "	" " " "

In den folgenden Versuchen wurde neben der Zeit zugleich die Menge des Immunserums variiert bzw. die Versuche mit und ohne Immunserum angestellt.

Durch die gleichzeitige verschiedenartige Einwirkung dieser beiden Faktoren entstehen so recht komplizierte Verhältnisse. Aus dem zunächst folgenden Versuch sehen wir, daß bei Verwendung von Immunserum schon nach einer halben Stunde

eine tödliche Giftdosis nicht nachzuweisen ist, während das in der gleichen Zeit unter Verwendung von Normalserum wohl der Fall ist.

Versuchsreihe 17 (12. I. 11).

Es wird von 24-stündigen *Prodigosus* agarkulturen eine Emulsion von 24 Oesen in 3 ccm NaCl hergestellt und in 6 Röhrchen verteilt. Die Hälfte (A) wird mit je 0,5 Antiprodigosus-Kaninchenserum (S 4), die andere (B) mit je 0,5 NaCl beschickt und 30 Minuten im Brutschrank belassen. Dann werden je 3 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt und die Röhrchen 1 Stunde im Brutschrank, später bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Prüfung der Abgüsse erfolgt zu verschiedenen Zeiten.

No.	Kultur	Bakterienmenge	Beladung	Komplementmenge	Abspaltzeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	4 Oes.	be-laden	3 ccm	30 Min.	4 ccm	S 232	200	keine Anaph.	Tod am and. Morg.
II	"	4 "	dgl.	3 "	60 "	4 "	S 234	180	" "	" " " "
III	"	4 "	"	3 "	18 Std.	4 "	S 236	200	" "	Tod "nach" 3 Stdn.
IV	Prodig.	4 Oes.	nicht belad.	3 ccm	30 Min.	4 ccm	S 231	200	schwere Anaph.	Tod nach 3 Min.
V	"	4 "	dgl.	3 "	60 "	4 "	S 233	180	" " " "	" " 3 "
VI	"	4 "	"	3 "	18 Std.	4 "	S 235	180	keine Anaphyl.	" " 3 Stdn.

Aehnlich verlief die folgende Versuchsreihe.

Versuchsreihe 18 (13. I. 11).

Aus 24-stündigen Agarkulturen des *B. prodigosus* wird eine Emulsion von 32 Oesen in 4 ccm NaCl bereitet. Zu 3 ccm der Emulsion wird 2 ccm Antiprodigosus-Kaninchenserum S 4 und 18 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt. 1 ccm der Emulsion wird in zwei Röhrchen verteilt und mit je 3 ccm desselben Meerschweinchenserums versetzt. Aus der mit Immunserum versetzten Probe wird zu verschiedenen Zeiten ein Teil (je 3,5 ccm) entnommen, zentrifugiert und der Abguß injiziert. Die Abspaltung erfolgt 1 1/2 Stunden bei 37°, später bei Zimmertemperatur.

No.	Kultur	Bakterienmenge	Beladung	Komplementmenge	Abspaltzeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	24 Oes.	be-laden	18 ccm	1 Stde.	3,5 ccm	S 226	190	schwache Anaph.	Tod am and. Morg.
II					1 1/2 St.	3,5 "	S 227	200	deutliche Anaph.	" " " "
III					6 Stdn.	3,5 "	S 228	200	keine Anaphyl.	" " " "
IV	Prodig.	4 Oes.	nicht belad.	3 ccm	1 Stde.	3,5 ccm	S 225	200	schwere Anaph.	Tod in 3 Minuten

Ganz analog verläuft der folgende Versuch mit der gleichen Bakterienart. Wir sehen, daß nach 20 Minuten unter Verwendung von 0,2 Immunserum aus dem Prodigiosus kein Gift zu erhalten ist (Versuch V). Findet dagegen die Beladung mit den geringen Mengen von Antikörpern statt, wie sie in entsprechender Menge von Normalkaninchenserum vorhanden ist, so ist nach 20 Minuten eine tödliche Giftdosis nachweisbar (Versuch VI).

Wird dagegen nur normales Meerschweinchenserum verwandt (Versuch I—IV), so sehen wir wieder, daß erst nach 40 Minuten eine tödliche Giftdosis erreicht ist.

Versuchsreihe 19 (17. I. 11).

Aus 24-stündigen Prodigiosusagarkulturen wird eine Emulsion von 24 Oesen in 3 ccm NaCl bereitet und in 6 Röhrchen verteilt. 4 davon werden mit 2,5 ccm frischen Meerschweinchenserums allein beschickt und die Abgüsse zu verschiedenen Zeiten auf Giftigkeit geprüft, ein Röhrchen bekommt außerdem 0,2 ccm Antiprodigiosus-Kaninchenserum S 4, eines 0,2 ccm normales Kaninchenserum. Die Abspaltung erfolgt bei 37°.

No.	Kultur	Bakterienmenge	Beladung	Komplementmenge	Abspaltungszeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	4 Oes.	keine	2,5 ccm	20 Min.	3 ccm	S 237	190	keine Anaph.	Tod am and. Tage
II	"	4 "	"	2,5 "	30 "	3 "	S 242	200	"	"
III	"	4 "	"	2,5 "	40 "	3 "	S 238	200	schwere Anaph.	Tod "nach" 4 Min.
IV	"	4 "	"	2,5 "	60 "	3 "	S 239	200	" "	" " 3 "
V	Prodig.	4 Oes.	0,2 I.S. 4	2,5 ccm	20 Min.	3 ccm	S 240	190	keine Anaph.	Tod am and. Tage
VI	Prodig.	4 Oes.	0,2 norm. K.S	2,5 ccm	20 Min.	3 ccm	S 241	200	schwere Anaph.	Tod in 4 Min.

Der folgende Versuch zeigt vergleichsweise den Einfluß der Zeit ohne Immunserumbeladung bei Verwendung von *Vibrio Metschnikoff* einerseits und *Prodigiosus bacillus* andererseits. Wir sehen, daß bei Verwendung einer relativ geringen Komplementmenge von 3 ccm aus dem Prodigiosus bereits nach 40 Minuten eine tödliche Giftdosis erzielt ist.

Bei Variierung der Zeit von 1½ bis zu 18 Stunden (Versuch VIII—XI) ließen sich mit dem *Vibrio Metschnikoff* in keinem einzigen Versuch Erscheinungen mit dem Abguß erzielen.

Versuchsreihe 20 (20. I. 11).

Es wird eine Reihe von Röhrchen mit einer Emulsion von je 5 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur von *B. prodigiosus* resp. *Vibrio Metschnikoff* in je 1 ccm NaCl beschickt, je 3 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt und 1 Stunde bei 37° und 16 Stunden im Eisschrank belassen. Zu verschiedenen Zeiten werden Röhrchen entnommen und deren Abgüsse auf Giftwirkung in der üblichen Weise geprüft.

No.	Kultur	Bakterienmenge	Komplementmenge	Abspaltungszeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Gewicht	Krankheitsverlauf	Ausgang
I	Prodig.	5 Oes.	3 ccm	40 Min.	3,5 ccm	S 255	180	schwere Anaph.	Tod nach 2 Min.
II	"	5 "	3 "	18 Std.	3,5 "	S 260	180	" "	" " 2 "
III	Vibr. M.	5 Oes.	3 ccm	1½ Std.	3,5 ccm	S 256	200	keine Anaphyl.	Tod am and. Morg.
IV	" "	5 "	3 "	2½ Std.	3,5 "	S 258	220	" "	" " " "
V	" "	5 "	3 "	18 Std.	3,5 "	S 264	180	" "	" " " "

Sehr eklatant zeigt die folgende Versuchsreihe, einmal mit sensibilisierten, einmal mit unsensibilisierten Vibrionen sowohl den Einfluß der Beladung als auch den Einfluß der Zeit.

Wir sehen bei Verwendung des *Vibrio Metschnikoff*, daß diesmal aus den normalen Bakterien (Versuch V—VIII) eine tödliche Gift-dosis unter den gewählten Versuchsbedingungen erst nach 18 Stunden abgespalten werden kann, während bei Beladung der Bakterien mit Immunserum (I—IV) schon nach 1½ Stunden der Abg  tödlich wirkte. — Also das umgekehrte Verhältnis, wie wir es beim *Prodigiosus* gesehen haben ¹⁾.

Versuchsreihe 21 (18. II. 11).

Aus einer Reihe von 24-stündigen Agarkulturen des *Vibrio Metschn.* wird eine Emulsion von je 4 Oesen pro 1 ccm NaCl hergestellt. 4 ccm dieser Emulsion werden 3mal mit Antivibrio-Kaninchenserum S 2 beladen, indem die Emulsion auf 10 ccm mit NaCl verdünnt wird und in Intervallen von 30 Minuten 0,5, 0,3 und 0,2 ccm Immunserum zugesetzt wird. Die Beladung erfolgt bei 37°. Dann wird die Emulsion scharf zentrifugiert, gründlich gewaschen, auf 4 ccm Volum zurückgebracht und in 4 Röhrchen verteilt. Andere 4 Röhrchen werden mit je 1 ccm der ursprünglichen Emulsion beschickt. Die Röhrchen wurden dann mit je 4 ccm frischen

1) Es ist das kein prinzipieller Unterschied. Bei anderen Mengenverhältnissen ist es natürlich denkbar, daß auch beim *Prodigiosus* das Immunserum begünstigend auf die Giftabspaltung wirkt.

Meerschweinchenserums versetzt, 2 Stunden bei 37° und 18 Stunden im Eisschrank belassen. Zu den in der Tabelle angegebenen Zeiten werden einzelne Röhren entnommen, zentrifugiert und die Abgüsse geprüft.

No.	Kultur	Bakt.-menge	Bela-dung	Kompl.-menge	Abspal-tungs-zeit	Gift-dosis	No. des Tieres	Ge-wicht	Krankheits-verlauf	Ausgang
I	Vibr. M.	4 Oes.	I.S. 2	4 ccm	45 Min.	5 ccm	S 301	190	leichte Anaph.	Tod a. and. Tg.
II	"	4 "	"	4 "	1 $\frac{1}{2}$ Std.	5 "	S 299	190	schwere Anaph.	Tod in 3 Min.
III	"	4 "	"	4 "	3 Std.	5 "	S 303	190	" "	Tod in 3 Min.
IV	"	4 "	"	4 "	18 Std.	5 "	S 305	180	" "	Tod in 3 Min.
V	"	4 "	keine	4 "	45 Min.	5 "	S 300	190	keine Anaphyl.	Tod a. and. Tg.
VI	"	4 "	"	4 "	1 $\frac{1}{2}$ Std.	5 "	S 298	200	leichte Anaph.	Tod a. and. Tg.
VII	"	4 "	"	4 "	3 Std.	5 "	S 302	200	keine Anaphyl.	Tod a. and. Tg.
VIII	"	4 "	"	4 "	18 Std.	5 "	S 304	190	schwere Anaph.	Tod in 5 Min.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält weitere Untersuchungen über die Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas aus *Prodigiosus bacillus*, *Typhus bacillus*, *Vibrio Metschnikoff*, *Staphylococcus pyogenes*.

1) Es wird durch vergleichende Untersuchungen mit 2 verschiedenen Bakterienarten gezeigt, daß die Anaphylatoxinbildung bei verschiedenen Bakterienarten verschieden intensiv erfolgt.

2) Die Anaphylatoxinbildung gelingt auch und anscheinend etwas besser aus bei 100° abgetöteten Bakterien.

3) Die Intensität der Giftbildung ist abhängig von den Mengenverhältnissen zwischen Antigen und Antikörper derart, daß ein Ueberschuß jeder dieser beiden Komponenten den Nachweis des Anaphylatoxins erschweren kann.

4) Das Anaphylatoxin kann schon in wenigen Minuten sich bilden, verschwindet jedoch wieder bei zu langer Einwirkung des Serums.

IV. Ueber das akut wirkende Anaphylatoxin aus Tuberkelbacillen ¹⁾.

Von E. Friedberger und A. Schütze.

Die Versuche bilden eine Fortsetzung der in der XII. Mitteilung von Friedberger und Goldschmid publizierten Experimente, in denen zum ersten Mal über das akut wirkende Gift aus Tuberkelbacillen ausführlicher berichtet wurde (vorläufige Mitteilung Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32).

In den vorliegenden Versuchen galt es uns, vor allem die quantitativen Verhältnisse der Giftbildung genauer festzustellen. Daneben wurden noch die Unterschiede in der Intensität der Giftbildung einmal aus gekochten, das andere Mal aus rohen Bakterien geprüft. Wir benutzten hier ausschließlich einen virulenten Stamm des Typus humanus, der uns liebenswürdigerweise von Herrn Dr. Aronson überlassen worden war.

Das Bakterienmaterial wurde als Filtrerrückstand von Bouillonmassenkulturen gewonnen und kam stets bald nach der Filtration auf dem Filtrierpapier feucht ins Laboratorium.

Innerhalb der einzelnen Versuchsreihe wurde natürlich eine und dieselbe Bakterienernte in abgewogenen Mengen benutzt.

Doch schwankt die Dosis innerhalb der verschiedenen Versuchsreihen insofern nicht unerheblich, als namentlich im Anfang der Filtrerrückstand zum Teil in sehr feuchtem Zustand benutzt wurde, während wir später ihn durch sorgfältiges Trocknen zwischen Fließpapier von der anhaftenden Flüssigkeit möglichst zu befreien suchten ²⁾.

Da die Resultate mit dem Tuberkelbacillus mit den bei den übrigen Bakterien erzielten bezüglich der quantitativen Verhältnisse der Giftbildung im Prinzip vollkommen übereinstimmen, so können wir uns hier auf eine kurze Wiedergabe der Versuchsprotokolle beschränken. Eine vorläufige Veröffent-

1) Ein Teil der Versuche wurde im bakteriologischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit ausgeführt.

2) Erst in neuester Zeit ist es uns möglich gewesen, mit im Faustschen Apparat getrockneten und dann im Vakuum aufbewahrten Tuberkelbacillen zu arbeiten, die natürlich ein ganz exakt abwägbares Material darstellten. Ueber Versuche mit diesen Bakterien wird später berichtet.

lichung eines Teiles unserer Versuche ist außerdem bereits in der Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 9 erfolgt.

Es wurden hier die Antigenmengen, die Antiserummengen, die Komplementmengen und die Zeit der gegenseitigen Einwirkung variiert.

1. Variierung der Antigenmenge.

Wie schon erwähnt, sind nur jeweils die Mengen innerhalb einer und derselben Versuchsreihe miteinander vergleichbar, nicht aber die einzelnen Versuchsreihen unter sich.

Der folgende Versuch mit Verwendung relativ feuchter Tuberkelbacillen zeigt, daß innerhalb gewisser Mengen die Bildung einer akut tödenden Gittmenge von der Dosis des Antigens unabhängig ist.

Versuchsreihe I.

15. I. 3,0 g feuchte Tuberkelbacillen werden abgewogen, im Achatmörser fein verrieben und in 36 ccm normalem Meerschweinchenserum suspendiert. Verteilung der Gemische in verschiedenen Mengenverhältnissen auf 7 Reagenzröhrchen, welche 1 Stunde bei 37° und 16 Stunden bei 15° im Dunkeln aufbewahrt werden.

16. I. Zentrifugieren. Injektion der Abgüsse.

Tabelle I.

Ver- such No.	Tier No.	Ge- wicht	Kultur- menge	Kompl.- menge	Gift- dosis	Erscheinungen	Ausgang
I	192	200	0,1	4,0	3,0	sofort Krämpfe, schwere Anaphyl.	† n. $\frac{1}{4}$ Std.
II	193	200	0,3	4,0	3,0	sofort Krämpfe und Sprünge	† n. 35 Min.
III	194	200	0,5	4,0	3,0	sofort sehr starke Krämpfe und Dys- pnoe, schwere Ana- phyl. wie No. 192 und 193	† n. 15 Min.
IV	195	200	0,3	4,0	4,0	Sprünge, Krämpfe, Dyspnoe, Seiten- lage, nach 24 Min. Reflexe erloschen	† n. 25 Min.
V	196	200	0,5	4,0	4,0	sof. leichte Sprünge u. Krämpfe, $\frac{1}{4}$ Std. dan. schwer krank	† in 1 Std.
VI	197	200	0,5	7,0	2,0	anf. leichte Krämpfe, schwere Anaph. in 15 Minuten	† in 1 Std.
VII	198	200	0,5	7,0	3,0	schwer krank	† in 1 Std.

Die beiden folgenden Versuche zeigen dagegen, daß innerhalb gewisser Grenzen nur aus den kleineren Antigendosen sich eine tödliche Giftmenge abspalten läßt.

Versuchsreihe II.

13. I. 2,0 g feuchte Tuberkelbacillen werden abgewogen und im Achatmörser mit 25 ccm frischen normalen Meerschweinchenserums zu einer feinen Suspension verrieben. 5 Zentrifugierröhrchen werden mit verschiedenen Mengen dieser Bakterien + Komplement versetzt und 18 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

14. I. Es wird zentrifugiert. Prüfung der Abgüsse.

Tabelle II.

Ver- such No.	Tier No.	Ge- wicht	Kultur- menge	Kompl- menge	Injizierte Abguß- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	187	200	0,5	4,0	2,0	schwere Dyspnoe, danach bald erholt	† aufgefund. morg. 15. I.
II	188	200	0,5	4,0	4,0	nach 2 Minut. sehr starke Sprünge und Krämpfe, n. 4 Min. wieder erholt	† aufgefund. morg. 15. I.
III	189	200	0,5	4,0	4,0	Dyspnoe, keine Krämpfe	† aufgefund. morg. 15. I.
IV	190	210	0,3	4,0	4,0	sofort schwere Krämpfe, nach 2 Min. agon. Atmung	† n. 3 Min.
V	191	190	0,1	7,0	4,0	heftige Krämpfe	† n. 3 Min.

Versuchsreihe III.

29. I. 0,3 g Tuberkelbacillen (halbfeucht) werden in 12 ccm normalem Meerschweinchen-Komplementserum im Achatmörser fein verrieben und auf 4 Reagenzröhrchen in verschiedenen Dosen verteilt. Die Röhrchen kommen 1 Stunde bei 37°, danach 17 Stunden bei 15° ins Dunkle.

30. I. Zentrifugieren. Injektion der Abgüsse.

Tabelle III.

Ver- such No.	Tier No.	Ge- wicht	Kultur- menge	Kompl- menge	Injizierte Abguß- menge	Erscheinungen	Ausgang
IV	H45	190	0,1	4,0	4,0	keine Krämpfe, anscheinend gesund	lebt
III	H44	190	0,1	4,0	4,0	leichte Dyspnoe. Tier erholt sich wieder	lebt, † 13. II.
II	H43	190	0,05	4,0	4,0	sof. heftige Krämpfe und Sprünge, aber Tier erholt sich	lebt, † 11. II.
I	H42	200	0,05	4,0	4,0	sofort starke Erscheinung, Krämpfe, agonale Atmung, n. 1 Min. Reflexe erloschen	† n. 2 Min.

Bei Verwendung zu kleiner Mengen von Antigen erfolgt natürlich keine Giftabspaltung mehr, wie das die folgende Versuchsserie zeigt.

Versuchsreihe IV.

10. I. 0,2 g feuchte Tuberkelbacillen werden in 10 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung fein verrieben und suspendiert, so daß 1 ccm = 0,02 g Tuberkelbacillen enthält. Hiervon werden verschiedene Verdünnungen mittels physiol. Kochsalzlösung hergestellt und die Bakterien mit normalem Meerschweinchen-Komplementserum versetzt.

11. I. Nach 16—18-stündigem Stehen bei 15° wird zentrifugiert. Prüfung der Abgüsse.

Tabelle IV.

Ver- such No.	Tier No.	Ge- wicht	Kultur- menge	Kompl.- menge	Gift- dosis	Erscheinungen	Ausgang
I	183	200	0,02	4,2	4,2	schwere Krämpfe Seitenlage, Sprünge	† n. 34 Min.
II	184	200	0,01	3,5	3,5	Dyspnoe	† 12. I.
III	185	200	0,002	4,5	4,5	leichte Dyspnoe,	lebt
IV	186	200	0,001	4,5	4,5	keine Erscheinungen	lebt

Weitere Versuche, aus denen sich gleichfalls ergibt, daß nur bei Verwendung mittlerer Antigenmengen eine intensive Giftausbeute zu erzielen ist, folgen weiter unten bei den Versuchen, in denen das Verhalten gekochter und roher Bakterien miteinander verglichen wird (s. p. 439).

2. Variierung der Immunserummengen ¹⁾.

Auch bei Variierung der Immunserummengen zeigen sich bezüglich der Tuberkelbacillen dieselben Verhältnisse, wie wir sie an andern Bakterienarten ermittelt haben.

Die folgende Versuchsreihe V zeigt, daß bei Verwendung gewisser Bakterienmengen die Giftabspaltung besser durch Normalambozeptoren gelingt, als bei Verwendung von Immunserum.

¹⁾ Es wurde zu diesen Versuchen ausschließlich ein von Herrn Prof. Ruppel-Höchst bezogenes Immunserum benutzt. Herrn Prof. Ruppel sind wir für die Ueberlassung zu Dank verpflichtet. Bei den Versuchen mit Immunserum haben wir besonders auf Granula gefahndet; doch ergaben die Präparate ebensowenig wie früher Anzeigen für Bakteriolyse.

Versuchsreihe V.

25. Januar.

24. I. 1,0 g feuchte Tuberkelbacillen werden in 10 ccm 0,8-proz. NaCl-Lösung fein verrieben und suspendiert, so daß 1 ccm = 0,1 g Tuberkelbacillen enthält. Hiervon werden bestimmte Mengen (siehe Tabelle) mit steigenden Dosen von Höchster Tuberkulose-Immunserum versetzt. Die Röhrchen kommen auf 1 Stunde in den Brutschrank bei 37°, die durch Zentrifugieren gewonnenen Bodensätze werden mit physiol. NaCl-Lösung zweimal reichlich gewaschen und mit normalem Meerschweinchen-Komplementserum versetzt. Die Röhrchen werden danach 16 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt.

25. V. Zentrifugieren, Injektion der Abgüsse.

Tabelle V.

Versuch No.	Tier No.	Gewicht	Feuchte Tuberkelbacillen	Im.-Ser.	Kompl.-menge	Gift-menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H15	200	0,07	0	4,0	4,0	Vereinzelte Sprünge	lebt
II	H16	200	0,1	0	4,0	4,0	Krämpfe, nach 1 Min. agonale Atmung, nach 2 Min. Reflexe erloschen	† n. 3 Min.
III	H17	200	0,15	0	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IV	H18	200	0,15	0,3	4,0	4,0	" "	"
V	H19	200	0,15	0,4	4,0	4,0	" "	"
VI	H20	200	0,15	0,5	4,0	4,0	" "	"
VII	H21	200	0,15	1,0	4,0	4,0	" "	"

In dem folgenden Versuch wurde neben der Immunserummengemenge zugleich die Antigenmenge variiert.

Dabei ergibt es sich, daß durch Normalserum wiederum nur bei einer mittleren Antigendosis (Vers. II) eine Giftabsplaltung erfolgt.

Bei Verwendung etwas größerer Antigendosen ist zwar die konstante Normalserumdosis unwirksam (Vers. III—V), aber ebenso werden unwirksame Abgüsse erhalten bei Verwendung zu großer Immunserummengen (Vers. VII—X).

Und nur bei einer kleinen Immunserummengemenge in Versuch VI ist der Abguß tödlich giftig.

Versuchsreihe VI.

26. Januar.

25. I. 1,6 g halbfeuchte, neue Tuberkelbacillen werden in 8 ccm physiol. NaCl-Lösung fein verrieben und suspendiert. Hiervon werden

gleiche Mengen mit steigenden Dosen Höchster Tuberkulose-Immunserum vermischt und die Reagenzgläser auf 1 Stunde in den Brutschrank bei 37° gestellt. Es wird hierauf zentrifugiert und die 2mal mit Kochsalzlösung reichlich gewaschenen Bodensätze werden mit normalem Meerschweinchen-Komplementserum versetzt. Die Röhrchen werden 16 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

26. I. Zentrifugieren, Injektion der Abgüsse.

Tabelle VI.

Ver- such No.	Tier No.	Ge- wicht	Bakt.- menge, halb- feucht	Immun- serummenge	Kom- plement- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H22	170	0,035	0	4,0	4,0	keine	lebt, † 18. II.
II	H23	170	0,07	0	4,0	4,0	sofort Krämpfe, Sprünge, Seiten- lage, nach 2 Min. Reflexe erloschen	† n. 4 Min.
III	H24	170	0,1	0	4,0	4,0	schwere Dyspnoe, leichte Krämpfe	lebt
IV	H25	170	0,1	0	4,0	4,0	keine Symptome	lebt, † 13. II.
V	H26	170	0,15	0	4,0	4,0	" "	lebt
VI	H27	180	0,15	0,005	4,0	4,0	sofort Krämpfe und Sprünge, Schaum tritt aus Nase	† n. 5 Min.
VII	H28	150	0,15	0,01	4,0	2,5	Dyspnoe, leichte Krämpfe	lebt
VIII	H29	190	0,15	0,05	4,0	4,0	keine Symptome	lebt, † 13. II.
IX	H30	170	0,15	0,1	4,0	4,0	keine Symptome	lebt, † 13. II.
X	H31	180	0,15	0,5	4,0	4,0	" ,	lebt, † 13. II.

3. Variierung der Komplementmenge.

In der folgenden Versuchsreihe wurde die minimale Komplementmenge ermittelt, die nötig ist, um aus einer konstanten Tuberkelbacillendosis ein akut tödliches Gift zu erhalten.

Versuchsreihe VII.

25. I. werden verrieben

Tuberkelbacillen halbfeuchte	mit Meerschweinchenserum	
0,1	5,0	(Abguß A)
0,1	4,0	(" B)
0,1	3,0	(" C)
0,1	1,0	(" D)

Alle Röhrchen werden auf gleiches Volumen mit physiol. NaCl-Lösung aufgefüllt und 18 Stunden bei 15° im Dunkeln aufbewahrt.

26. I. Es wird zentrifugiert, die Abgüsse werden injiziert.

Tabelle VII.

Ver- such No.	Meer- schwein- chen	Ge- wicht	Abguß	Erscheinungen	Ausgang
I	H 32	170	A	sofort Sprünge, Krämpfe, Seitenlage, hintere Extremitäten gelähmt	† nach 5 Minuten
II	H 33	180	B	sofort schwer anaphylaktisch, nach 5 Minuten Reflexe erloschen	† nach 7 Minuten
III	H 34	170	C	keine Erscheinungen	† 13. II.
IV	H 35	170	D	keine Erscheinungen	† 8. II.

4. Variierung der Zeit für die Giftabspaltung.

Die beiden folgenden Versuche zeigen, daß unter Verwendung von Normalmeerschweinchenserum allein erst nach 3½ Stunden bei 37° der Komplementabguß sich als giftig erweist (Versuchsreihe IX, Versuch No. I).

Versuchsreihe VIII.

30. I. 0,5 g Tuberkelbacillen werden in 12 ccm normalem Meerschweinchenkomplementserum fein verrieben und zu gleichen Mengen auf 3 Zentrifugierröhrchen verteilt. Die Gläschen bleiben ¼, ¾ und 2 Stunden im Brutschrank bei 37°. Es folgt Zentrifugieren und Injektion der Abgüsse.

Tabelle VIII.

Ver- such No.	Meer- schwein- chen	Ge- wicht	Bak- terien- menge	Kom- plement- menge	Gift- menge	In- jiziert nach	Er- scheinungen	Aus- gang
I	46	200	0,05	4,0	4,0	15 Min. bei 37°	keine	lebt,
II	47	200	0,05	4,0	4,0	45 Min. bei 37°	keine	lebt,
III	48	200	0,05	4,0	4,0	2 Stdn. bei 37°	Tier matt, aber ohne Krämpfe und Sprünge	† 13. II. † 31. I.

Versuchsreihe IX.

31. I. 0,1 g Tuberkelbacillen werden im Achatmörser mit 8,0 ccm normalem Meerschweinchenkomplementserum fein verrieben und auf 2 Zentrifugierröhrchen zu gleichen Mengen verteilt. Aufbewahrung der Gläschen $3\frac{1}{4}$ und $4\frac{3}{4}$ Stunden bei 37° . Zentrifugieren und Injektion der Abgüsse.

Tabelle IX.

Ver- such No.	Meer- schw.	Ge- wicht	Bak- terien- menge	Kom- plement- menge	Gift- menge	In- jiziert nach	Erscheinungen	Ausgang
I	50	210	0,05	4,0	4,0	$3\frac{1}{4}$ Std. bei 37°	vereinzelte Krämpfe und Sprünge, Schaum tritt aus Mund und Nase	† n. 15 Min.
II	51	190	0,05	4,0	4,0	$4\frac{3}{4}$ Std. bei 37°	sof. starke Krämpfe und Sprünge, agonale Dyspnoe, Schaum tritt aus Mund und Nase. Urinabgang	† n. 20 Min.

Einen analogen Versuch unter Verwendung von Immuns-
serum Höchst zeigt die folgende Versuchsserie X.

Interessant ist es, daß in dieser Versuchsserie nach
24 Stunden der Abguß bei den entsprechenden Mengen-
verhältnissen wieder ungiftiger geworden war.

Versuchsreihe X.

Es wurden 7 mal 0,001 g getrocknete Tuberkelbacillen abgewogen, teils mit physiol. NaCl-Lösung, teils mit Immuns-
serum versetzt; alle Röhrchen auf 3 ccm Kochsalzlösung aufgefüllt. Die Röhrchen wurden 60 Minuten lang bei 37° gehalten, zentrifugiert, die Bodensätze einmal mit reichlicher Menge Kochsalzlösung gewaschen, mit je 4 ccm normalem Meerschweinchen-
serum versetzt, wieder in den Brutschrank auf eine bestimmte, aus den Tabellen ersichtliche Zeit gestellt und abermals zentrifugiert. Die Abgüsse werden dann zur intravenösen Injektion verwandt.

Tabelle X.

9. Februar.

Ver- such- No.	Meer- schw. No.	Gewicht	Bak- terien- menge	Im- mun- serum Höchst	Gift- menge	Dauer d. Ein- wirkg. bei 37°	Gift- menge	Erscheinungen	Aus- gang
I	H 92	190	0,001	0,5	4,0	10 Min.	4,0	keine	lebt, † 22. II.
II	H 93	190	0,001	0,5	4,0	25 Min.	4,0	matt	lebt
III	H 94	190	0,001	0,5	4,0	8/4 Std.	4,0	keine	lebt
IV	H 95	190	0,001	0,5	4,0	3 Stdn.	4,0	keine	lebt
V	H 96	190	0,001	0,5	4,0	4 1/2 St.	4,0	sofort heftige Krämpfe, Sei- tenlage, Dys- pnoe, Schaum- austritt aus Nase	† nach 5 Min.

10. Februar.

VI	H 98	190	0,001	0,5	4,0	24 Std. (davon 23 Std. bei 15°)	4,0	Krämpfe, Sprünge, Dyspn. erholt sich	† 13. II.
----	------	-----	-------	-----	-----	--	-----	---	-----------

5. Die Intensität der Anaphylatoxinabspaltung bei Verwendung von gekochten Tuberkelbacillen im Vergleich zu rohen.

Diese Versuche zeigen insgesamt, daß unter Verwendung gekochter Bakterien fast stets der Nachweis des Giftes leichter gelingt als bei Verwendung von nicht gekochten. Da in diesen Versuchen zugleich die Zeit, die Immunserummenge, auch die Menge des Antigens verschiedentlich variiert wurden, so stellen diese Versuchsserien zugleich einen Beleg und eine Ergänzung für die vorher mitgeteilten dar.

Versuche mit gekochten Tuberkelbacillen.

Versuchsreihe XI.

29. I. Es werden 0,6 g feuchte Tuberkelbacillen abgewogen und mit 12 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung fein verrieben. Die eine Hälfte dieser Aufschwemmung wird 15 Minuten lang im Wasserbade bei 100° gehalten, die andere bei Zimmertemperatur belassen. Hierauf werden von beiden Portionen die entsprechenden Verdünnungen bereitet, durch Auffüllen mit physiologischer NaCl-Lösung gleiche Volumina hergestellt und die durch Zentrifugieren erhaltenen Bodensätze zweimal reichlich gewaschen und mit je 4 ccm normalen Meerschweinchenserums versetzt. Die Röhrchen werden 18 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

30. I. Zentrifugieren. Injektion der Abgüsse.

Tabelle XI.

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H 49	170	0,09 gekochte	4,0	4,0	Krämpfe	† n. 1/2 Min.
II	H 52	220	0,05 gekochte	4,0	4,0	etwas matt, sonst keine Symptome	lebt
III	H 53	200	0,05 gekochte	4,0	4,0	matt, sonst keine Symptome	lebt
IV	H 54	170	0,01 gekochte	4,0	4,0	keine	lebt
V	H 55	190	0,2 rohe	4,0	4,0	sofort Krämpfe und Sprünge	† n. 1 Min.
VI	H 56	200	0,1 rohe	4,0	4,0	keine	lebt
VII	H 57	200	0,05 rohe	4,0	4,0	leicht krank, keine Krämpfe u. Sprünge	lebt
VIII	H 58	190	0,01 rohe	4,0	4,0	keine	lebt
IX	H 59	190	0,005 rohe	4,0	4,0	keine	lebt

Versuchsreihe XII.

1. II. 0,8 g feuchte Tuberkelbacillen werden mit 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben. Die eine Hälfte dieser Menge (6 ccm = 0,4 g Tuberkelbacillen) wird 1/4 Stunde im Wasserbad bei 100° gekocht, die andere bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Herstellung entsprechender Verdünnungen aus der gekochten und nicht gekochten Portion, Auffüllen auf gleiche Volumina mittelst physiologischer Kochsalzlösung, Zentrifugieren, zweimaliges ausgiebiges Waschen der Bodensätze, welche mit je 4 ccm normalen Meer-schweinchen-serums versetzt werden. Die Röhrchen verbleiben 18 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur.

2. II. Zentrifugieren. Injektion der Abgüsse.

Tabelle XII.

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H 60	190	0,2 gekochte	4,0	4,0	sofort Krämpfe	† n. 1 Min. post inject.
II	H 61	200	0,1 gekochte	4,0	4,0	sofort schwere Dys- pnoe, totale Läh- mung, nach 5 Min. Tier wieder erholt	† nach 2 Std.
III	H 62	190	0,05 gekochte	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IV	H 63	200	0,2 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
V	H 64	200	0,1 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
VI	H 65	200	0,05 rohe	4,0	4,0	leichte Krämpfe	lebt

Versuchsreihe XIII.

3. II. Es werden neue Tuberkelbacillen mit Fließpapier etwas abgepreßt, hiervon 0,8 g Bacillen abgewogen und in 12 ccm physiologischer NaCl-Lösung fein verrieben. Die eine Hälfte dieser Menge wird 15 Minuten lang im Wasserbade gekocht, die andere bei Zimmertemperatur belassen. Bereitung der zu der Versuchsreihe notwendigen Verdünnungen aus der gekochten und nicht erhitzten Portion, Auffüllen auf gleiche Volumina mittelst physiologischer NaCl-Lösung, Zentrifugieren und zweimaliges reichliches Waschen der Bodensätze, welche mit je 4 ccm normalem Meerschweinchenserum versetzt werden. Die Röhrrchen verbleiben 17 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur.

4. II. Zentrifugieren. Injektion der Abgüsse.

Tabelle XIII.

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H 66	190	0,2 gekochte	4,0	4,0	sofort Krämpfe, Dys- pnoe, Atonie, erholt sich wieder	lebt
II	H 67	200	0,1 gekochte	4,0	4,0	Krämpfe, starke Dys- pnoe, agonale At- mung	† n. 40 Min.
III	H 68	200	0,05 gekochte	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IV	H 69	210	0,2 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
V	H 70	200	0,1 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
VI	H 71	200	0,05 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt

In den beiden folgenden Versuchsreihen sehen wir keine bessere Giftbildung mit gekochten Bakterien.

Versuchsreihe XIV.

4. II. Fallende Mengen gekochter (15 Min. lang bei 100° im Wasserbade) und roher Tuberkelbacillen werden mittels physiol. NaCl-Lösung auf gleiche Volumina aufgefüllt. Zentrifugieren, zweimaliges reichliches Waschen der Bodensätze, zu welchen je 4 ccm normales Meerschweinchenserum hinzugefügt werden. Die Röhrrchen werden 18 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

5. II. Zentrifugieren, Injektion der Abgüsse.

Tabelle XIV. .

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Injekt.- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H72	190	0,3 gekochte	4,0	4,0	keine	lebt
II	H73	190	0,01 gekochte	4,0	4,0	leichte Sprünge, Dyspnoe	lebt
III	H74	190	0,005 gekochte	4,0	4,0	leicht dyspnoisch	lebt
IV	H75	190	0,3 rohe	4,0	4,0	sofort Krämpfe und Sprünge, erholt sich	lebt
V	H76	190	0,01 rohe	4,0	4,0	Krämpfe, 25 Min. nach der Injektion kolossale Sprünge u. schwere Krämpfe, Opisthotonus, er- holt sich	lebt
VI	H77	190	0,005 rohe	4,0	2,5	keine Symptome	lebt

Versuchsreihe XV.

5. II. 0,16 g fast trockene Tuberkelbacillen werden mit 12 ccm physiol. NaCl-Lösung fein verrieben und zu gleichen Mengen auf 2 Reagenz-
gläschen verteilt. Die eine Hälfte wird 15 Min. im Wasserbade gekocht, die
andere bei Zimmertemperatur belassen. Fallende Mengen dieser gekochten
und rohen Tuberkelbacillen werden mittels physiol. Kochsalzlösung auf
gleiche Volumina aufgefüllt. Es wird zentrifugiert, die Bodensätze werden
zweimal ausgiebig gewaschen und mit je 4 ccm normalem Meerschweinchen-
serum versetzt. Die Röhrchen verbleiben 16 Stunden im Dunkeln bei 15°.

6. II. Injektion der durch scharfes Zentrifugieren gewonnenen Abgüsse.

Tabelle XV.

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H78	200	0,05 gekochte	4,0	4,0	vereinzelte leichte Sprünge	lebt
II	H79	200	0,01 gekochte	4,0	4,0	leicht dyspnoisch	lebt
III	H80	200	0,005 gekochte	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
IV	H81	200	0,05 rohe	4,0	4,0	1 Std. post inject. schwere Krämpfe, agonale Atmung	† n. 80 Min.
V	H82	200	0,01 rohe	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
VI	H83	200	0,005 rohe	4,0	4,0	Sprünge, Tier ist dyspnoisch, erholt sich nach 2 Min. wieder	lebt

Versuchsreihe XVI.

7. II. Fallende Mengen 15 Minuten lang im Wasserbade gekochter und roher Tuberkelbacillen (trockenes Material) werden mittels physiol. NaCl-Lösung auf gleiche Volumina aufgefüllt. Die durch scharfes Zentrifugieren erhaltenen Bodensätze werden zweimal gründlich gewaschen und mit je 4 ccm normalem Meerschweinchenserum versetzt. Die Röhrchen verbleiben 18 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur.

8. II. Zentrifugieren, Injektion der Abgüsse.

Tabelle XVI.

Ver- such No.	Meer- schw. No.	Ge- wicht	Bakt.- menge	Kompl.- menge	Gift- menge	Erscheinungen	Ausgang
I	H84	170	0,01 gekochte	4,0	4,0	sof. Dyspnoe, deutl. Krämpfe, typisch anaphylaktisch	lebt
II	H85	170	0,005 gekochte	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
III	H86	150	0,001 gekochte	4,0	4,0	sof. starke Krämpfe und Sprünge, nach 5 Min. Reflexe er- loschen (viel stärker anaphylaktisch wie H 90)	† n. 6 Min.
IV	H87	170	0,0005 gekochte	4,0	4,0	keine Symptome	lebt
V	H88	170	0,01 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
VI	H89	170	0,005 rohe	4,0	4,0	keine „	lebt
VII	H90	150	0,001 rohe	4,0	4,0	sofort Dyspnoe und Sprünge, n. 3 Min. vereinzelte hohe Sprünge, agonale Atmung. 10 Min. hierauf wieder er- holt, 10 Min. später reflexlos	† n. 23 Min.
VIII	H91	170	0,0005 rohe	4,0	4,0	keine Symptome	lebt

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält weitere Untersuchungen über die Bildung des Anaphylatoxins aus einem virulenten Tuberkelbacillenstamm (humanus). Es gelingt, in Bestätigung der früheren Angaben des einen von uns (Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32), sofern geeignete Mengenverhältnisse der für die

Giftabspaltung in Frage kommenden Komponenten vorliegen, sehr leicht, ein akut tötendes Anaphylatoxin zu erzielen, auch durch Normalmeerschweinchenserum allein.

Die Bedingungen für die optimale Giftausbeute werden ermittelt unter Variierung der Antigenmenge, der Immunserrummenge, der Komplementmenge und der Zeit.

Die Abspaltung des Anaphylatoxins gelingt auch bei Verwendung gekochter Tuberkelbacillen, ja aus gekochten Tuberkelbacillen läßt sich das Anaphylatoxin i. R. noch leichter abspalten als aus lebenden.

V. Ueber Anaphylatoxinbildung im Organismus des Meerschweinchens.

Von E. Friedberger und E. Nathan.

R. Pfeiffer hat auf der Naturforscherversammlung in Königsberg (1910) gegenüber den von E. Friedberger vorgetragenen Versuchen über die Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas den Einwand erhoben, daß diese Reagenzglasversuche im Grunde genommen nicht beweisend seien für die Verhältnisse bei der Infektion im Organismus.

Obwohl das Anaphylatoxin im Reagenzglas aus den gleichen Komponenten entsteht, die auch im Organismus bei einer Infektion miteinander in Reaktion treten, so war doch dieser Einwand a priori durchaus berechtigt, und er gab uns die Veranlassung zu den im nachstehenden zu besprechenden Versuchen, die Anaphylatoxinbildung anstatt im Reagenzglas in der Bauchhöhle des Meerschweinchens erfolgen zu lassen.

Sehr zu Unrecht sind seinerzeit die klassischen Bakteriolyseversuche R. Pfeiffers, die ja gleichfalls am Meerschweinchen durch peritoneale Injektion vorgenommen wurden, mit den Reagenzglasversuchen auf eine Stufe gestellt worden. Wenn man auch oberflächlich die Peritonealhöhle mit einem Reagenzglas vergleichen kann, so handelt es sich doch zum wenigsten hier, wie R. Pfeiffer betont hat, um ein Reagenzglas mit lebenden Wänden, in dem der Zustrom von Antikörpern

und Komplement unter analogen Verhältnissen wie auch an jeder anderen Stelle des Organismus einer Infektion statt hat.

Wir suchten nicht nur zu ermitteln, ob die Giftbildung unter Bedingungen, wie wir sie im Reagenzglasversuch gewählt hatten, in der Bauchhöhle des Tieres erfolgt, sondern auch, ob die quantitativen und vor allem die zeitlichen Verhältnisse bei der Giftbildung etwa die gleichen sind, wie sie in den drei vorstehenden Arbeiten im Reagenzglasversuch zu Tage traten.

Auf Grund der Reagenzglasversuche waren wir zu dem Ergebnis gekommen, daß es sich bei der Anaphylatoxinbildung aus Mikroorganismen um die Entstehung eines giftigen Zwischenproduktes bei dem Abbau des Bakterieneiweißes durch das Ambozeptorkomplementkomplex handelte.

Dementsprechend haben wir gesehen, daß die Giftbildung regelmäßig nur unter Verwendung gewisser optimaler Mengen und unter Einhaltung bestimmter zeitlicher Bedingungen der für sie in Betracht kommenden Komponenten eintrat und namentlich um so schneller erfolgte, je günstiger die Verhältnisse für einen Abbau des Bakterieneiweißes lagen.

Vollkommen analoge Verhältnisse kehren nun bei unseren Tierversuchen wieder. Wir gingen so vor, daß wir normalen oder aktiv immunisierten Meerschweinchen je eine Schrägagarkultur vom *Bacillus prodigiosus*, aufgeschwemmt in 5,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung, intraperitoneal einspritzten.

Zu verschiedener Zeit nach der intraperitonealen Injektion wurden dann die Tiere durch Nackenschlag getötet, das Bauchhöhlenexsudat entnommen und die Bauchhöhle noch mit gleichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung nachgespült. Das Exsudat vereinigt mit der Spülflüssigkeit, wurde dann sorgfältig zentrifugiert und der Abguß in stets gleichbleibender Menge von 4,5 ccm auf seine Giftigkeit an normalen Meerschweinchen von ca. 200 g Körpergewicht durch intravenöse Injektion geprüft.

Im nachstehenden folgt eine Versuchsreihe, bei der die Bakterien normalen Tieren eingespritzt waren und nachher das Exsudat an Normaltieren auf seine Giftigkeit geprüft wurde.

Tabelle I.

Ver- such No.	Intraperitoneale Injektion				Intravenöse Injektion			
	Tier	Ge- wicht	Bak- terien- menge	Exsudat- abnahme nach	Tier	Ge- wicht	Injiz. Dosis d. des Ex- sudates	Resultat
1	Z 94	220 g	1 Kultur	5'	P 62	210 g	3,5 ccm	am nächsten Morgen tot gefunden
2	M 128	240 „	„	10'	P 70	230 „	4,0 „	Temperaturabfall. Tot in 3 1/2 Stunden
3	N 1	250 „	„	10'	F 28	200 „	4,0 „	Temperaturabfall. Tot in 6 Stunden
4	Z 118	250 „	„	20'	Z 124	200 „	4,0 „	am nächsten Morgen tot aufgefunden
5	Z 127	220 „	„	30'	Z 125	220 „	4,0 „	Temperaturabfall. Nachts gestorben
6	C 90	350 „	„	1 ^b	Z 134	240 „	4,0 „	Temperaturabfall. Nachts gestorben
7	Z 142	260 „	„	3 ^b	M 178	230 „	4,0 „	Nachts gestorben.
8	N 226	290 „	„	4 1/2 ^b	N 227	200 „	4,5 „	unbestimmte Sym- ptome. Nachts ge- storben
9	N 225	300 „	„	6 ^b	N 228	200 „	4,5 „	sehr schwere anaphylak- tische Krämpfe. Seitenlage. Erholt sich wieder. Nachts gestorben
10	N 239	300 „	„	6 ^b	N 242	200 „	4,5 „	schwerste Ana- phylaxie. Tot in 4 Minuten
11	N 251	280 „	„	8 ^b 15'	N 229	220 „	4,5 „	schwerste Ana- phylaxie. Tot in 5 Minuten

Wie sich aus der Tabelle ergibt, wurde das Exsudat zu den verschiedensten Zeiten nach der Einspritzung der Bakterien entnommen. Dabei stellte sich heraus, daß erst nach 6-stündigem Aufenthalt der Bakterien in der Bauchhöhle des Meerschweinchens soviel Gift gebildet war, daß das gewonnene und zentrifugierte Exsudat akut toxisch wirkte.

Wesentlich anders ist das Resultat, wenn als Exsudatlieferanten nicht normale, sondern 24 Stunden vorher mit Bouillon präparierte Tiere benutzt werden. (Es wurden diesen Tieren 1,0—1,5 Bouillon intraperitoneal injiziert.)

Wir wissen aus den Resistenzversuchen von R. Pfeiffer und seinen Schülern und vor allem wieder aus den neueren Versuchen von Pfeiffer und Bessau, daß bei der Schaffung einer derartigen Resistenz in der Bauchhöhle des Meerschweinchens infolge der Entzündung ein vermehrter Zufluß der normalen Antikörper statt hat.

Dementsprechend ergeben unsere Versuche (s. Tabelle II), daß das Peritonealexsudat der mit Bouillon präparierten Tiere, unter den gleichen Bedingungen wie vorher gewonnen, bedeutend früher, nämlich bereits nach 2½ Stunden seine maximale Giftigkeit erreichte, nach 6 Stunden aber wieder ungiftig geworden ist.

Tabelle II.

Versuch No.	Intraperitoneale Injektion					Intravenöse Injektion			
	Tier	Gewicht g	Bouillon am Tag vorher ccm	Bak- terien- menge	Ex- sudat- ab- nahme nach	Tier	Gewicht g	Dosis des injizierten Exsudates ccm	Resultat
1	N 87	390	1,0	1 Kultur	1 ^h	N 39	220	4,0	Dyspnoe. Nachts gestorben
2	N 88	360	1,0	dgl.	2 ^h	N 94	220	4,0	Anaphylaxie. Tier erholt sich wieder. Nachts gestorben
3	N 90	370	1,0	„	2½ ^h	N 95	260	4,5	Anaphylaxie. Tot in 6 Min.
4	N 89	370	1,0	„	3 ^h	N 96	290	4,5	Anaphylaxie. Tot in 1 Min.
5	N 80	300	1,5	„	4 ^h	N 85	250	4,5	Anaphylaxie. Tot in 1 Min.
6	N 81	350	1,5	„	6 ^h	N 86	220	4,5	Dyspnoe. Nachts gestorben

In Uebereinstimmung mit diesen Versuchen erzielten wir nun eine noch bedeutend schnellere Giftbildung, wenn wir beim normalen Meerschweinchen Bakterien gemischt mit Immunserum in die Bauchhöhle einspritzten und dadurch den Abbau des Bakterieneiweiß wesentlich beschleunigten.

Unter diesen Bedingungen haben wir bereits nach 20–30 Minuten ein giftiges Exsudat, das 6 Stunden alte Exsudat ist wieder völlig ungiftig geworden.

Tabelle III.

Versuch	Intraperitoneale Injektion					Intravenöse Injektion		
	Tier	Gewicht g	Bak- terien- menge	Immun- serum ¹⁾	Exsudat- nahme nach	Tier	Gewicht g	Dosis des injizierten Exsudates ccm
1	M272	370	1 Kultur	0,1	5'	M378	200	4,5
2	c 92	440	dgl.	0,1	10'	P71	250	4,5
3	N199	250	"	0,1	10'	N200	190	4,5
4	N201	260	"	0,1	10'	N202	210	4,5
5	g 4	300	"	0,1	20'	Z126	230	4,5
6	M385	250	"	0,1	30'	o. N.	280	4,5
7	N192	270	"	0,1	30'	N193	190	4,5
8	P8	320	"	0,2	30'	N136	200	4,5
9	Z36	270	"	0,1	1 ^h	48	320	4,5
10	D23	350	"	0,1	2 ^h	Z148	220	4,5
11	M172	350	"	0,1	3 ^h	Z146	200	4,5
12	N229	300	"	0,1	6 ^h	N230	200	4,5

Wurde die intraperitoneale Injektion bei aktiv immunisierten Tieren vorgenommen, so gelang es uns überhaupt nicht, ein giftiges Exsudat abzufangen (s. Tabelle IV).

Schon aus den Reagenzglasversuchen der vorhergehenden Arbeiten wissen wir, wie ungemein leicht beim Prodigiosus der Abbau erfolgt und wie schwierig es ist, bei Verwendung von Immunserum überhaupt noch einen giftigen Abguß zu erzielen. So wird das Resultat unserer in-vivo-Versuche ohne weiteres verständlich.

1) Immunserum von Kaninchen durch wiederholte Vorbehandlung mit 60°-Prodigiosusbakterien (intraperitoneal) gewonnen. Agglutination 1 : 2560.

Tabelle IV.

Versuch	Intraperitoneale Injektion					Intravenöse Injektion			
	Tier	Gewicht g	Sensibilisiert ¹⁾ mit	Bakterienmenge	Exsudat- abnahme nach	Tier	Gewicht g	Dosis des injizierten Exsudates ccm	Resultat
1	N 145	270	1 Kultur	1 Kultur	3'	N 205	210	4,5	keine Symptome
2	N 153	350	dgl.	dgl.	7'	N 204	210	4,5	" "
3	N 144	460	"	"	15'	N 207	200	4,5	" "
4	N 50	270	"	"	30'	N 112	200	4,5	" "
5	N 55	300	"	"	1 ^b	N 113	200	4,5	" "
6	N 54	260	"	"	2 ^b	N 114	260	4,5	" "
7	N 216	300	"	"	3 ^b	N 233	200	4,5	" "
8	N 219	300	"	"	6 ^a	N 252	210	4,5	" "
9	N 221	320	"	"	6 ^{1/2} , ^b	N 253	190	4,5	" "

Wurden für die intraperitoneale Injektion gekochte Bacillen verwendet, so zeigte sich, wie schon die Reagenzglasversuche von Friedberger und Szymanowski ergeben hatten, daß unter dieser Bedingung die Giftigbildung bedeutend rascher, schon nach 2 Stunden eingetreten war, während bei Einspritzung ungekochter Bacillen das Exsudat erst nach 6 Stunden giftig wirkte. Es spalten also gekochte Bacillen leichter das Gift ab als ungekochte.

Tabelle V.

Versuch	Intraperitoneale Injektion				Intravenöse Injektion			
	Tier	Gewicht	Gekochte ²⁾ Bakt.	Exsudat- entnahme nach	Tier	Gewicht	Injiziert. Exsudat	Resultat
1	N 249	300 g	1 Kultur	1 ^a	N 250	200 g	4,5 ccm	keine Symptome. Nachts gestorben
2	N 246	290 "	dgl.	2 ^a	N 247	190 "	4,5 "	sehr schwere anaphylakt. Krämpfe. Erholt sich wieder etwas, tot in 45'
3	N 245	280 "	"	4 ^a	N 248	190 "	4,5 "	undeutliche Symptome. Nachts gestorben

1) Die Tiere waren 14 Tage vorher mit je einer Schrägagarkultur Bac. prodigiosus, 2 Stunden bei 60° abgetötet, subkutan vorbehandelt.

2) Die Bakterien waren 5 Minuten lang gekocht.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Versuche über die Anaphylatoxinbildung aus Prodigiosusbacillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens. Es ergibt sich, daß das Gift im Tierkörper ebenso gut wie im Reagenzglas entsteht und daß die Bedingungen für die Giftbildung dieselben sind. Dementsprechend sehen wir, daß beim hochgradig aktiv immunisierten Tier ein giftiges Exsudat überhaupt nicht erzielt wird, beim passiv immunisierten Tier erfolgt die Bildung einer tödlichen Anaphylatoxindosis frühzeitiger als beim mit Bouillon resistent gemachten Tier, bei diesem wieder früher als beim normalen. Aus gekochten Bakterien bildet sich das Gift früher als aus rohen. Parallel mit dem frühzeitigeren Eintreten der Giftbildung setzt auch die Entgiftung der Exsudate frühzeitiger ein.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 8889

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. IX. No. 4.

Nachdruck verboten.

[From the Danish State Serum Institute (Director:
Dr. Th. Madsen).]

Observations on the Effect of the Sight of Injection upon the Production of Agglutinin.

By **W. Landram McFarland** (New York).

With 5 Charts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Dezember 1910.)

Since Brieger and Ehrlich (1), Salomonsen and Madsen (2), Morgenroth (3), and others, demonstrated the rise and fall of antibodies by means of curves, many workers have adopted that method. In view of the demand for brevity it is not deemed necessary to review the literature of immunity curves, that having been thoroughly done by predecessors of the writer. Amongst the interesting results which have been obtained are those of Forssmann (4) with botulismus toxin and of Tallquist (5) with Vibriolysin. Forssmann using goats found that the curve following intravenous injection was low with a gradual rise, maximum on the 10th day, gradual decline. The curve following subcutaneous injection was high, sharp rise on the 5th day, almost a horizontal line from the 7th to 17th days, maximum on the 15th day, sharp decline on the 17th day. Tallquist working at this Institute with vibriolysin secured curves rabbit which were the reverse. Subcutaneous injection produced curves which follow the lines of the intravenous curve of Forssmann. Intravenous injections produced curves which rose sharply on the 12th day, high maximum on the 19th to 23rd days, sharp decline. On the other hand Madsen (6) has shown, that the injection of diphtheria toxin in the jugular vein of an immunized horse did not produce the slightest formation of antibody, while the injection of the same amount of the same

toxin subcutaneously in the same horse, was followed by the usual antitoxic curve. Considering the differences in the observations of these investigators and in hope that some knowledge of the effect of the sight of injection on the production of antibodies might be gained, the following series of experiments was decided upon. Agglutinin was chosen as being the most convenient and easily measured of the antibodies.

Scheme of work.

A series, each consisting of three rabbits and one goat were injected subcutaneously, intravenously, in a branch of the mesenteric vein, and intraperitoneally. Three rabbits were injected in the pleural cavity. All were fresh animals and tested for normal agglutinin before injection. It was unfortunate that the weight of the rabbits varied between 1800 and 2500 grams, more uniform weights could not be secured. The goats weighed between 15 and 16 kilos. One strain of *Bacillus coli communis* was used throughout and the stock bouillon cultures for agglutinin examination were as uniform as possible. As Dreyer has observed the production of agglutinin to be influenced by the amount and intervals of bleeding, as nearly as could be regulated the same quantity was taken each time, and the bleedings were at regular intervals when the condition of the animal permitted.

Technique.

Bacteria: *Bacillus coli communis*¹⁾.

Bacterial suspension for injection: For this purpose bacteria were cultivated 48 hours, on 3 % agar in Roux flasks, then scraped off into sterile 0.9 % NaCl sol. and killed with 0.5 % formaldehyd. 3 ccm. of the suspension killed 2000 gram rabbits in 24 hours, 15 ccm. killed 15 kilo goats in 12 hours.

Stock culture: For agglutinin examinations a stock bouillon culture was made, tested, and preserved according

1) Isolated from human urine by Dr. Wulff at this Institute.

to the methods commonly employed at this Institute. It was necessary to renew the stock culture several times owing to the amount used.

Injection of animals: All rabbits received 1 ccm. of bacterial suspension, all goats 5 ccm.

Bleeding and care of serum: Rabbits were bled $2\frac{1}{2}$ —3 ccm. every other day when the condition of the animal permitted, beginning 3—4 days after injection. Goats were bled 6—7 ccm. every day when possible. Blood was allowed to stand over night at room temperature before removal of serum. To each sample of rabbit serum was added a small drop of chloroform owing to the probability of infection. This was not considered necessary with goat serum.

Examination of serum: The method of Jørgensen and Madsen (7) was used in the examination of serum. If the reading of a series of tubes was irregular a second and if necessary a third test was made and a mean of the several readings taken.

Curves.

All curves are drawn to the same scale making a comparison of the amount of agglutinin possible. As usual the abscissa indicates the number of days from the time of injection while the ordinate indicates the agglutinin units per ccm. of serum.

Subcutaneous injection (charts I and IA). According to former observations agglutinin curves of animals injected subcutaneously are usually high and reach their maximum in from 9 to 12 days. To the general rule the curve of goat no. 1 conforms in height, but not in time when its maximum is reached, while those of goats no. 3 and 4 conform in the time of their maximum but not in height. All three rabbit curves are extremely low but reach their maximum in 9 and 11 days as is usual.

Intravenous injection¹⁾ (chart II). With the exception of rabbit no. 3 the curves on this chart reach a

1) Rabbits were injected in the ear veins, the goat in the jugular.

moderate height with a maximum on the 10th day, followed of a sharp decline.

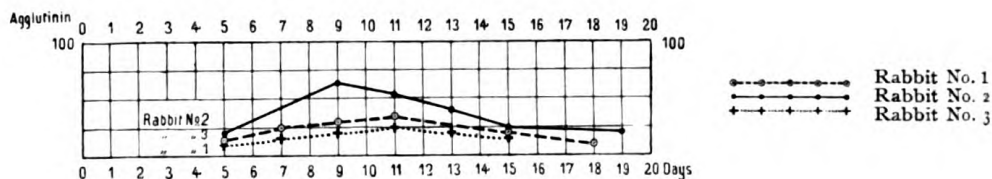


Chart I. Subcutaneous Injection.

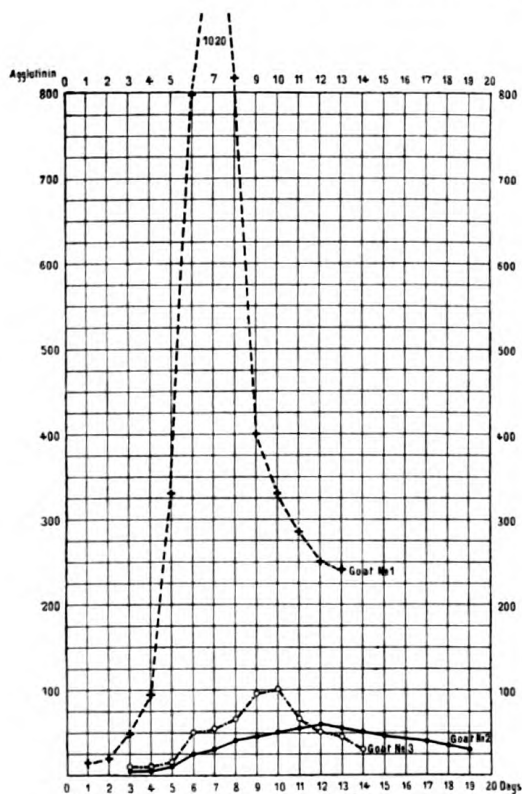


Chart IA. Subcutaneous Injection.

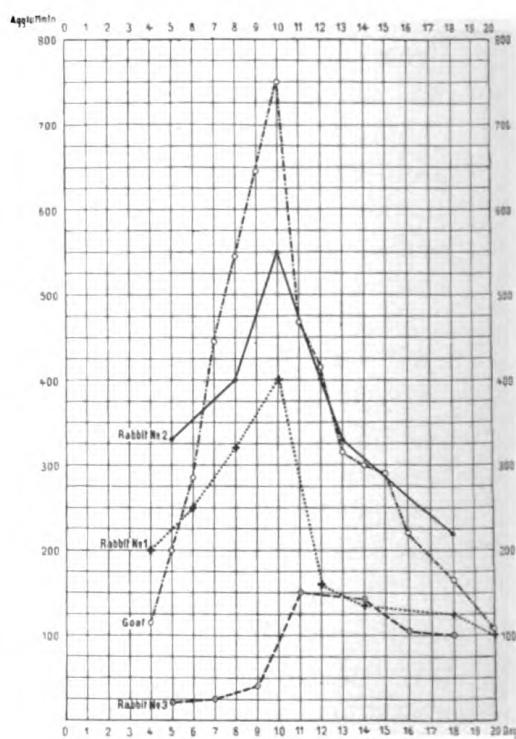


Chart II. Intravenous Injection.

Mesenteric vein injection (chart III). The phases of rabbit curves nos. 2 and 3 are similar. A low but rapid rise, an early maximum on the 5th day and a gradual decline.

The curve of rabbit no. 1 is considerably higher and reaches its maximum on the 7th day, the form of the curve however is comparable with those of nos. 2 and 3. In marked contrast is the goat curve, being higher than any of the entire

series and reaching its maximum on the 9th day. This curve somewhat resembles the curve of goat injected in jugular vein, shown in chart II.

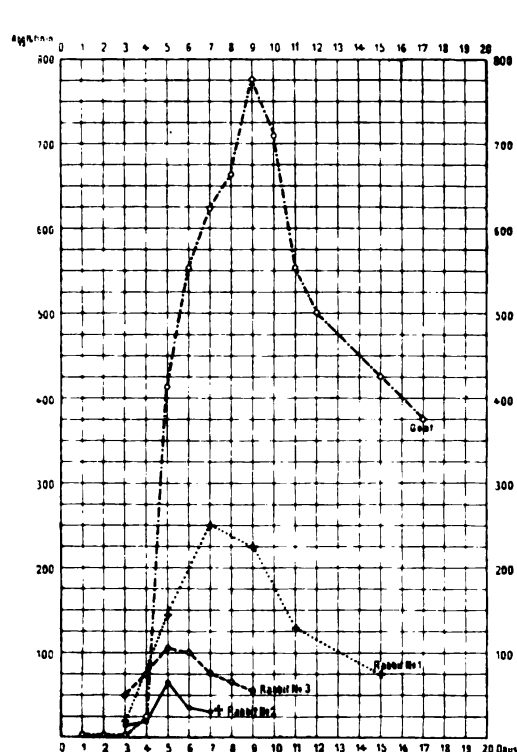


Chart III. Mesenteric Vein Injection.

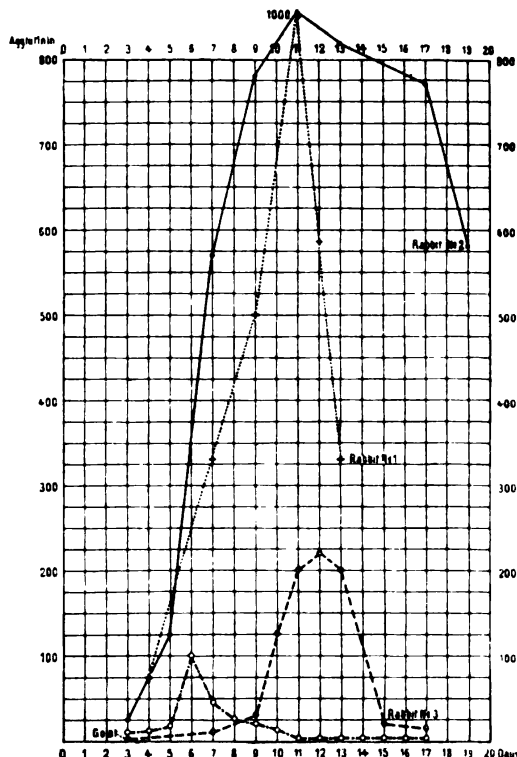


Chart IV. Intraperitoneal Injection.

Intraperitoneal injection (chart IV). Generally following intraperitoneal injection the production of agglutinin is higher than when other points of injection are used. The time when the maximum is reached varies according to different observers, from 6—7 days as noted by Madsen and Walbum, 9—11 days by Jørgensen and Madsen (7), 15 days by Levin. Rabbit curves nos. 1 and 2 follow the usual rule as to the amount produced, in time when they reach their maximum they might also be said to agree. No. 3 curve while low compares in time with nos. 1 and 2. The goat curve is unusually low, with its maximum on the 6th day and is in no way comparable with those of the rabbits.

Pleural cavity injection (chart V). The appearance of the curves on this chart might indicate a slow absorption of the bacterial suspension. Their comparable phases are a

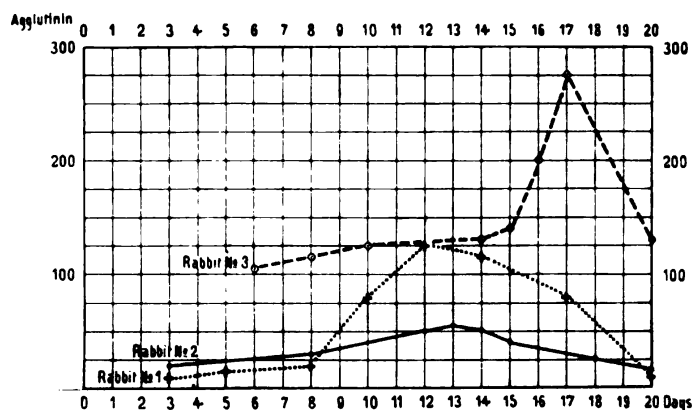


Chart V. Pleural Cavity Injection.

low gradual rise, a late maximum on the 12th, 13th and 17th days, and with nos. 1 and 2 a gradual decline.

Results.

The results of these experiments appear to have been principally dependent upon the individual reactions of the various animals rather than upon the sight of injection. In comparing the curves it was not observed that difference in weight of animals or variation in time of bleeding exerted any appreciable influence. When the serum of rabbits injected in the mesenteric vein was examined it was thought that this form of injection might uniformly yield a small amount of agglutinin with the maximum occurring several days earlier than usual, the reaction of the goat however was entirely different. What influence the liver may have upon the production of antibodies is a matter of interest, as is also the rapidity of absorption from the pleural cavity. It is to be regretted that time did not permit the injection of more goats in branches of the mesenteric vein, and their observation under varied conditions of food and exercise.

While apparently nothing has been gained concerning the influence of the point of injection as far as the production

of agglutinin is concerned, the curves which have been presented compare favorably with the agglutinin curves of other workers. The marked differences noted by Forssmann with botulismus toxins, Madsen with diphtheria toxin, and Tallquist with vibriolysin between subcutaneous and intravenous injections, do not seem to occur with agglutinin. Owing to the importance of a wider knowledge of the production of antibodies, further experiments, haemolytic, precipitin, agglutinin, ricin, etc. might profitably be conducted along the lines which have here been followed.

Zusammenfassung.

Von Forssmann, Madsen, Tallquist u. a. wurde gezeigt, daß die Produktionsweise gewisser Antikörper von der Injektionsstelle abhängig war.

In den hier mitgeteilten Versuchen wurde die Agglutininbildung nach Injektion von Colikultur untersucht. Nach Injektion unter die Haut, in die Venen, in die Mesenterialvenen, in das Peritonäum, sowie auch in die Pleurahöhle von Kaninchen und Ziegen wurde kein durchgreifender Unterschied in den Agglutinincurven beobachtet.

References.

- 1) Brieger and Ehrlich, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 13, 1893.
- 2) Salomonsen et Madsen, Annales de l'Institut Pasteur, 1897, 1899.
- 3) Morgenroth, J., Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 26, 1899.
- 4) Forssmann, ibid., Bd. 38, 1905.
- 5) Tallquist, I. W., Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 58, 1908.
- 6) Madsen, Th., Public Health Papers and Reports, Vol. 27 (Americ. Public Health Assoc.), 1901.
- 7) Jørgensen og Madsen, Festskrift ved Indvielsen af Statens Serum-institut, 1902.
- 8) Jørgensen, Axel, Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 38, 1905.

Nachdruck verboten.

[From the Hygienic Laboratory, University of Michigan.]

Protein Fever.

By Victor C. Vaughan, James G. Cumming and John H. Wright.

With 12 Charts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Februar 1911.)

Introduction.

In August, 1909, Vaughan, Wheeler and Gidley published in the Journal of the American Medical Association a preliminary article upon this subject. From that report we make the following abstract and show some of the fever charts obtained at that time, with some additional ones representing our work since.

Work done in this laboratory during the past ten years on the cleavage products of proteins, bacterial, vegetable and animal, has shown that many proteins, probably all, may be split into poisonous and non-poisonous parts. The poisonous portion seems to be the same so far as its effects on animals are concerned, whatever the protein from which it is derived. Egg-white contains the same poison, physiologically at least, as that found in the typhoid bacillus, and if egg-white could grow and multiply in the animal body it would, as a result of such growth and subsequent cleavage, be just as deadly as the bacilli of the infectious diseases¹). When a man drinks

1) Armit (This Journal, Bd. 6. p. 703) has tried to split up egg-white crystallized with ammonium sulphate by our method, and his findings are quite at variance with ours. The portion which we found to be poisonous he finds is not poisonous, and vice versa. Armit regards egg-white as thus crystallized as pure albumin. In this opinion we cannot concur. Egg-white after crystallization with ammonium sulphate is not pure albumin any more than phosphate of soda is pure phosphorus. Albumin has both acid and basic properties and combines in part with both the base and acid of ammonium sulphate, and that chemically combined with the protein is not removed by dialysis. The poisonous action of the alcohol non-soluble product in large doses as found by Armit is probably due to the alkali which he has failed to remove. We have never tried to extract the poisonous group from egg-white crystallized with ammonium sulphate, and we are

water containing typhoid bacilli and proves susceptible he does not immediately manifest symptoms of this disease. There is a period of incubation which in typhoid fever is about ten days. During this time the bacilli are multiplying in the man's body in great numbers, and are converting his proteins into bacterial proteins. The period of incubation stops and that of the active disease begins when the cells of the man's body become sensitized, elaborate a specific proteolytic ferment, and with this begin to split up the foreign protein.

The production of continued fever in rabbits by repeated subcutaneous injections of dilutions of egg-white.

If the above be true it should be possible to cause a continued fever in animals by repeated injections of a foreign protein in small doses. This was first tried on rabbits with egg-white and the results are shown in Chart I.

This animal was kept under observation and its temperature taken for six days before the injections were begun. The temperature of this fore period varied from 101.8° to 102.5° F. The injections consisted of egg-white with an equal volume of 0.5 per cent phenol solution, and was freshly prepared each day. The injections were made under the skin over

not surprised that the method we have employed on natural proteins should fail when applied to this artificial product, but we have frequently obtained the poison from edestin which is generally regarded as one of the purest of known proteins. Peptones are poisonous and the symptoms induced by peptones and by our poison are quite similar if not identical, and the protein poison has been found in peptones not only by ourselves but by Nicolle and Abt (*Annales de l'Institut Pasteur*, Febr. 1908).

It is certainly possible that our method does not extract the poisonous group from egg-white which has been crystallized with ammonium sulphate, but until the evidence submitted is more convincing than that furnished by Armit, we will continue in the belief that a poisonous group, similar to that which we have found, is an essential constituent of the protein molecule. As to egg-white crystallized with ammonium sulphate being pure albumin, we quote from Abderhalden: "It is certainly a matter of great importance that no albumin as such has yet been definitely isolated in a crystalline state. A possible exception would be that of the globulins, generally called edestin, separated from plant seeds. They contain a considerable amount of sodium chlorid. It is impossible to remove this entirely, and still retain the crystalline form. Although we are still in the dark regarding the influence of sodium chlorid on the crystallization of edestin we do know that egg-albumin and serum-albumin do not themselves crystallize, whereas their sulphates do, as was shown by Mörner.

the back and repeated at intervals of two hours from 7 A.M. to 9 P.M. The urine was collected, measured, its specific gravity taken with a picnometer and its nitrogen content determined by the Kjeldahl method. The animal was weighed once a day. The first injection of 2 c.c. of the egg-white dilution was made at 1 P.M., May 27, 1909. This dose was continued at the intervals stated until 3 P.M., June 1, when it was doubled, and again doubled at 7 A.M., June 4. The animal received 40 doses of 2 c.c. each, 20 doses of 4 c.c. each, and 82 doses of 8 c.c. each of the egg-white dilution; in all 816 c.c. Albumin appeared in the urine when the dose was increased to 4 c.c. The last dose was given at 9 A.M., June 15, after which the albumin in the urine gradually diminished and wholly disappeared June 26. The day before the first dose was given the animal weighed 2525 g and on the day of the last dose it weighed 2180 g. After discontinuing the treatment, June 15, the weight continued to decrease until June 21, when it reached its lowest, 1850 g. After this the weight gradually increased, until June 26, after which it was not taken.

The following figures give the weight of the animal, the amount of urine, the specific gravity, percent of ash and percent of N in the urine:

Date 1909	Weight g	Amount of Urine c. c.	Spec. G.	Ash %	N %
5/26	2525	—	—	—	—
5/27	2450	260	1.0106	1.61	0.16
5/28	2440	125	1.0124	2.12	0.15
5/29	2380	54	—	—	0.16
5/30	2330	275	1.0110	1.73	0.19
5/31	2270	266	1.0130	2.41	0.23
6/1	2355	104	1.0294	3.75	0.53
6/2	2335	370	1.0114	1.89	0.16
6/3	2320	290	1.0093	1.26	0.30
6/4	2290	155	1.0101	1.55	0.28
6/5	2290	225	1.0129	1.20	0.42
6/6	2250	95	1.0148	1.71	0.56
6/7	2320	100	1.0165	2.00	0.66
6/8	2350	52	1.0267	2.02	2.53
6/9	2355	115	1.0134	1.56	1.00
6/10	2345	155	1.0106	1.66	0.56
6/11	2230	165	1.0100	1.64	0.60
6/12	2330	95	1.0170	1.56	0.92
6/13	2280	190	1.0140	1.81	0.54
6/14	2250	115	1.0148	1.15	0.98
6/15	2180	140	1.0179	2.60	0.65
6/16	2130	155	1.0194	2.99	0.66
6/17	2080	170	1.0139	2.76	0.50
6/18	2040	205	1.0184	2.10	0.43
6/19	1960	150	1.0198	2.80	0.64
6/20	1880	22	—	—	2.90
6/21	1850	10	—	—	—
6/22	1885	55	—	—	—
6/23	1900	—	—	—	—
6/24	1980	—	—	—	—
6/25	2070	—	—	—	—
6/26	2120	—	—	—	—

+ First Injection of series.

Chart I. The Production of Continued Fever in a Rabbit by Repeated subcutaneous Injections of Egg-White.

and the fifth had a mixture of 2.5 c.c. of each of these fluids. All were found to be sensitized, thus showing the presence of both egg-white and serum protein in the urine of the febrile rabbit.

It is worthy of note that while these animals developed the three stages characteristic of protein sensitization, the second and third stages were unusually prolonged and less acute than those generally observed in sensitized guinea-pigs. Of the two treated with egg-white, one died at the end of two hours and the other fifteen minutes later. Of the two treated with rabbit serum one died at the end of one hour, while the other lived for three hours. The one that had the mixture of proteins developed the symptoms more promptly than any of the others, but did not die.

A continued fever was maintained in another rabbit by injections of the same strength of egg-white solution from April 30 to May 18, 1909. In this instance the size of the dose was not altered. The animal received four doses daily from April 30 to May 11, after which five were given until May 15, and then for three days we returned to four doses daily. The fever continued, after the injections were discontinued, until the evening of May 20, when it fell by crisis below the normal, slowly returning to the normal. The urine was collected and nitrogen determined as in the other instance, but the charts are so similar that we do not consider it necessary to present the second one.

The production of continued fever in rabbits by repeated subcutaneous injections of the poisonous group of the typhoid protein.

Chart II shows the effects of repeated subcutaneous injections of sublethal doses of the poisonous group split off from the cellular substance of the typhoid bacillus with a 2 percent solution of sodium hydroxid in absolute alcohol.

The material used was the crude soluble poison containing about 10 percent of the poison in the purest form in which we have been able to obtain it. This crude soluble poison was administered every two hours from 7 A.M. to 9 P.M., from May 3 to May 18, 1909. Each dose consisted

of 200 mg of the crude poison, 300 mg being a fatal quantity for rabbits of the size used.

When a fatal dose of the protein poison is administered the temperature rapidly falls, but with smaller repeated doses a continued fever results. The more nearly the dose approaches the fatal amount the more speedily will the animal succumb. Death may be sudden and under a high temperature, or it may be slow and preceded by a fall of several degrees below the normal. From sublethal doses of the poison, animals

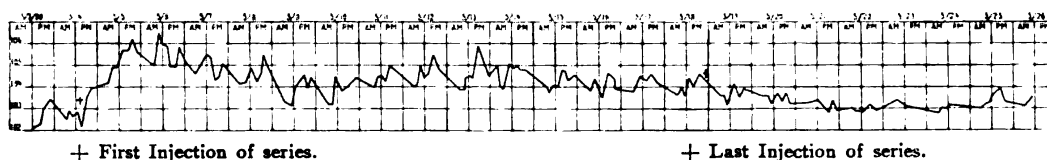


Chart II. The Production of continued Fever in a Rabbit by Repeated Subcutaneous Injections of the Poisonous Group from the Typhoid Bacillus.

recover quickly and apparently, completely. This seems to indicate that the poisonous effects are quickly neutralized in the animal body, but we are of the opinion that this neutralization is secured by more or less chemical disintegration in the protein molecules of certain cells in the body. The protein poison is acid to litmus and we have secured continued fever in rabbits by repeated injections of either the acid solution or the same after neutralization with sodium bicarbonate. Chart II needs no further explanation.

The effects of intraabdominal injections of egg-white.

Large single or repeated doses of egg-white injected intra-abdominally in non-sensitized rabbits have but little effect on the temperature. Generally the temperature runs slightly subnormal after such injections.

Aug. 22, 1909, we injected the whites of three eggs into the abdominal cavity of a rabbit. The highest temperature of the fore period was 100.9°. After the injection the temperature was taken every 2 hours from 8 A.M. to 6 P.M. up to Sept. 6. The animal was weighed each day and its urine measured and tested for albumin. There was no fever; indeed, the morning temperature fell some days to 97° and one day to 96.6°. The animal lost in weight, slightly more than one fifth of its original weight. The volume of urine averaged normal and at no time did it contain albumin.

On the other hand, 0.05 c. c. of egg-white, filtered through cotton, injected intraabdominally every half hour from 8 A.M. until 4 P.M. produced the following results:

	Time	Dose	Temperature
A.M.	8:00	0.05	102.8°
	8:30	0.05	101°
	9:00	0.05	102.6°
	9:30	0.05	102.9°
	10:00	0.05	102.6°
	10:30	0.05	103.2°
	11:00	0.05	103.4°
	11:30	0.05	103.5°
	12:00	0.05	103.4°
P.M.	12:30	0.05	104.4°
	1:00	0.05	104.8°
	1:30	0.05	105.1°
	2:00	0.05	105.3°
	2:30	0.05	105.3°
	3:00	0.05	105.8°
	3:30	0.05	105.8°
	4:00	0.05	105.8°
	4:30	0	106.6°
	5:00	0	106.6°
	5:30	0	106.1°
	8:00	0	104.1°
A.M.	8:00	0	103°

The production of fever in rabbits by repeated intravenous injections of egg-white.

The injection of a large amount of egg-white intravenously in a single or in repeated doses in non-sensitized rabbits does not cause any marked elevation of temperature.

After keeping a rabbit under observation for three days and finding that its temperature at no time reached 102°, we injected into its ear vein every two hours from 8 A.M. to 6 P.M. 4 c. c. of a dilution of egg-white with an equal volume of physiological salt solution, which dilution had been passed through a Berkefeld filter, and each c. c. of which contained 26 mg. of protein as ascertained by a Kjeldahl determination. This dosage was continued for six days. During the greater part of this time the temperature, which was taken before each injection, remained normal, sometimes subnormal, and only once did it reach 102°. Then the dose was increased to 10 c. c. and continued for four days. Twenty-four hours after the increase in dose there was an irregular, but not

marked elevation of temperature, the highest point reached being 104.4° . During the whole of the time the animal seemed quite well. Its greatest weight was observed during the time when the largest injections were being given, and at the same time the daily elimination of urine greatly increased, from 114 c. c., the average of the fore period, to as much as 650 c. c. at the time of the largest injections. The urine was tested daily for albumin with negative results. This experiment was continued from the 6th to the 19th of August, 1909. In March, 1910, a single injection of 5 c. c. of the dilution of egg-white was followed by a gradual rise in temperature to 105.8° within a few hours.

In order to induce fever in rabbits by the intravenous injection of dilutions of egg-white the doses must be small and the most striking results are obtained when the size of the dose is gradually increased. We have made many experiments along this line and some of them will be detailed.

Group I.

The initial dose in this group was one c. c. of egg-white diluted with an equal volume of physiological salt solution and passed through a Berkefeld filter. Each c. c. of this dilution contained 26 mg of protein. The doses were increased by one c. c. at each repetition, which was hourly.

In rabbit No. 2 the highest temperature of the fore period was 101.4° . The following table shows the results:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	1	100.8°
	9:00	2	103.2°
	10:00	3	104.3°
	11:00	4	104.6°
	12:00	5	105.4°
P.M.	1:00	6	105.6°
	2:00	7	106.1°
	3:00	8	105.2°
	4:00	9	102.2°
	4:30	0	100.5°
	5:00	0	Death.

This animal died with a sudden convulsive movement. The urine of the day and that in the distended bladder after

death was tested for albumin with negative results. Chart III shows the temperature curve of this animal, including the long fore period.

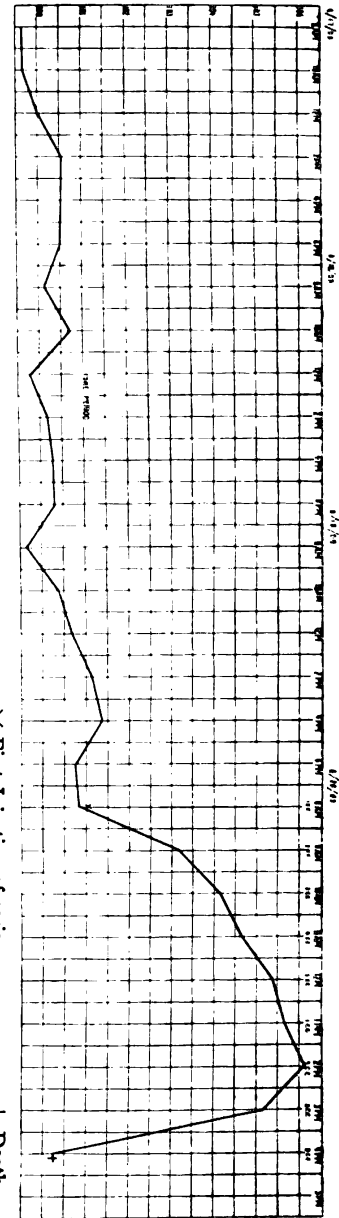


Chart III. Acute Fatal Fever produced in a Rabbit by Repeated Intravenous Injections of Egg-White.

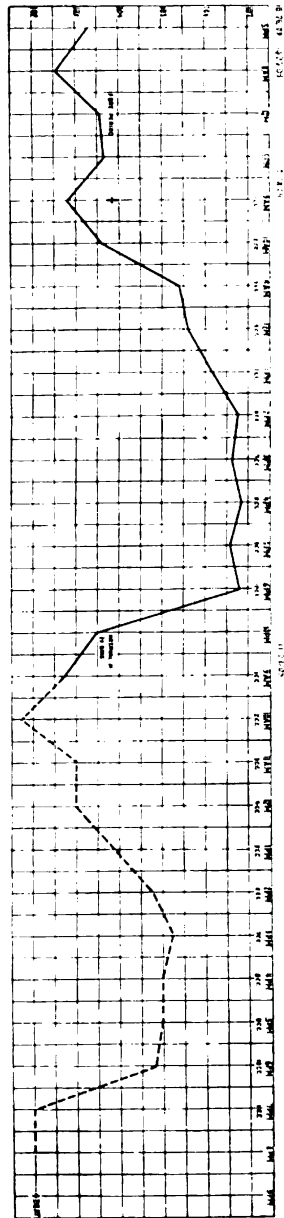


Chart IV. Acute Fever produced in a Rabbit by Intravenous Injections of Egg-white. The continuous line represents the temperature in the non-sensitized animal. The broken line represents the temperature in the same animal, sensitized.

In No. 5 the highest temperature of the fore period was 101.1°.

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	0	100.1°
	9:00	1	100.4°
	10:00	2	101.3°
	11:00	3	102.2°
	12:00	4	102.7°
P.M.	1:00	5	102.8°
	2:00	6	103.5°
	3:00	7	104.7°
	4:00	8	105.1°
	5:00	9	105.6°
	6:00	10	104.0°
	7:00	11	103.8°
	8:00	12	104.0°
	8:30	0	Death.

This animal showed no symptoms until the final convulsive movement.

The following is the record of No. 34.

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	102.8°
	10:00	2	104.0°
	11:00	3	105.4°
	12:00	4	105.2°
P.M.	1:00	5	105.4°
	2:00	6	105.4°
	3:00	7	106.0°
	4:00	8	105.4°
	5:00	9	105.3°
	6:00	10	105.8°

By 10 P.M. the temperature had fallen to 102.2°.

The record of No. 35 is shown by the following:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	102.8°
	10:00	2	103.6°
	11:00	3	105.4°
	12:00	4	105.6°
P.M.	1:00	5	106.2°
	2:00	6	106.7°
	3:00	7	106.6°
	4:00	8	106.8°
	5:00	9	106.6°

By 10 P.M. the temperature had fallen to 103.4° and the next morning the animal was apparently normal. Twenty-six days later this animal was treated in the same way, with fatal results. Chart IV shows the curve for both treatments.

Group II.

The dilution used contained 13 mg. of protein in each c. c.

No. 15.

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 9:00	1	102.6°
10:00	2	104.0°
11:00	3	104.9°
12:00	4	105.8°
P.M. 1:00	5	105.1°
2:00	6	105.6°
3:00	7	105.6°
4:00	8	106.2°
5:00	9	105.6°
6:00	10	104.2°

The temperature gradually fell, and the next morning at 10 it was 101.8°.

No. 16.

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 9:00	1	103.5°
10:00	2	104.1°
11:00	3	103.4°
12:00	4	104.2°
P.M. 1:00	5	104.5°
2:00	6	104.5°
3:00	7	103.8°
4:00	8	103.4°
5:00	9	103.2°
6:00	10	104.2°

The next morning the temperature was 101.8°.

Group III.

Each c. c. of the dilution contained 6.5 mg of protein

No. 18.

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 8:00	1	103.2°
9:00	2	102.0°
10:00	3	102.5°
11:00	4	103.8°
12:00	5	104.0°
P.M. 1:00	6	104.6°
2:00	7	104.0°
3:00	8	103.6°
4:00	9	104.0°
5:00	10	103.8°
6:00	11	103.8°

The temperature was normal the next morning.

After an interval of 174 days this animal was treated in the same way, with a fatal ending. Chart V shows the curve for both treatments.

Group IV.

Each c. c. of the dilution contained 3.25 mg. of protein.

No. 20.

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	103.0°
	10:00	2	103.0°
	11:00	3	103.4°
	12:00	4	103.8°
P.M.	1:00	5	104.0°
	2:00	6	103.8°
	3:00	7	104.2°
	4:00	8	104.4°
	5:00	9	104.4°

No. 21.

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	103.0°
	10:00	2	101.8°
	11:00	3	102.4°
	12:00	4	102.8°
P.M.	1:00	5	103.2°
	2:00	6	104.0°
	3:00	7	103.6°
	4:00	8	103.8°
	5:00	9	104.0°

After an interval of 140 days this animal was again treated with the following record:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	102.0°
	10:00	2	103.4°
	11:00	3	105.2°
	12:00	4	105.8°
P.M.	1:00	5	106.6°
	2:00	6	106.4°
	3:00	7	105.6°
	4:00	8	106.2°
	5:00	9	105.6°
	6:00	10	106.4°
	7:00	0	106.2°
	8:00	0	105.6°
	9:00	0	106.4°
	10:00	0	103.4°

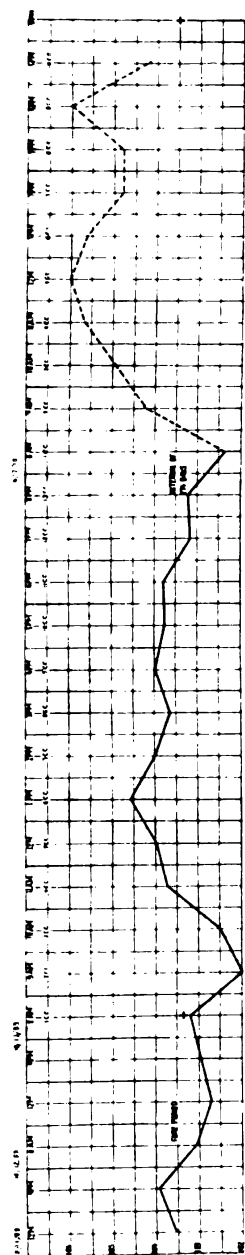


Chart V. Acute Fever produced in a Rabbit by the Intravenous Injection of Egg-white. The continuous line represents the temperature in the non-sensitized animal. The broken line represents the temperature in the same animal, sensitized.

After the second injection Cheyne-Stokes respiration appeared and continued through the day, but the injections were continued until 6 P.M. and the animal recovered.

Group V.

In this group but one injection was made each day. The dilution contained 26 mg. of protein in each c.c. The beginning dose was 3 c.c. and each day it was increased by 2 c.c. In No. 6, the dose was given each morning at 10 and was repeated for seven consecutive days. The beginning dose was 3 c.c., two of the larger doses being repeated. In this way a well marked intermittent fever of mild type was established. After each injection the temperature arose within from two to four hours, and returned to normal during the evening, and continued so until the next injection. With increase in the size of the dose the tendency was to take the remittent type, so that at no time of the day did the fall quite reach the normal limit.

Group VI.

We have found some rabbits which do not respond to the pyrogenic effect of intravenous injections of egg-white until the size of the dose is reduced. On receiving a new consignment of rabbits, we were surprised to find that these animals did not develop fever on receiving repeated doses of a dilution of egg-white (1 : 1) with salt solution. The following illustrates our experience:

No. 101.

This animal, weighing about 2600 g., was treated with increasing doses of the dilution (1 : 1).

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	9:00	1	102°
	10:00	2	100.4°
	11:00	3	100.5°
	12:00	4	100.2°
P.M.	1:00	5	100°
	2:00	6	96.4°
	3:00	0	Death.

The abdominal cavity was filled with bloody fluid. The urine found in the bladder contained a small amount of albumin.

No. 102.

Thinking that No. 101 was an individual exception, No. 102 was treated with the same dilution.

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 10:00	1	101.2°
11:00	2	101.4°
12:00	3	101.5°
P.M. 1:00	4	101.5°
2:00	5	101.8°
3:00	6	101.3°
4:00	7	101.5°
4:45	0	Death.

No. 103.

In this experiment the egg-white dilution was reduced (1:2).

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 10:00	1	101.4°
11:00	2	101.7°
12:00	3	102°
P.M. 1:00	4	102.5°
2:00	5	102.8°
3:00	6	102.4°
4:00	7	101.8°
5:00	0	97.6°
6:00	0	97.4°
6:30	0	Death.

No. 104.

In this experiment the dilution was farther reduced (1:3).

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 7:30	1	101.6°
8:30	2	101.2°
9:30	3	101.7°
10:30	4	101.8°
11:30	5	102.6°
P.M. 12:30	6	103.4°
1:30	7	103.8°
2:30	8	104.1°
3:30	9	104.4°
4:30	0	104.5°
5:30	0	105.2°

These differences in response to the injections of egg-white seem to be characteristic of certain groups or batches of animals and not of individuals within the group. Our laboratory buys its rabbits in lots of from 25 to 100. If one out of a given lot responds to a certain dose of egg-white we have

found that others of the same lot respond in much the same way. Whether this is due to differences in food or in breed we have not determined, but are inclined to believe that breed has much to do with it. Possibly age is an individual factor.

A brief statement of the autopsy findings in acute poisoning of rabbits with egg-white.

This work has been turned over to our colleagues of the department of pathology, and Morse has been kind enough to make a few autopsies for us. We make a short abstract of his report:

Rabbit A received intravenously four doses of 10 c. c. each of a dilution of egg-white with an equal volume of physiological salt solution. The doses were administered at intervals of one hour. During the administration of the fourth dose the animal died in convulsions. A gray rabbit of average size and well nourished; external orifices are normal; mucous membranes, cyanotic; body, cold; rigor mortis, moderate. The peritoneal cavity contains a small amount of blood-tinged, serous fluid. Superficial inspection reveals nothing else of note. There is no displacement of organs, no peritonitis, no area of hemorrhage in the serosa. The pericardial sac is normal. There is no increase of pericardial fluid and the pleural cavities are dry. In the anterior mediastinum there is a moderate amount of pale fat with a few petechial hemorrhages. The thymus is large, swollen and edematous. It spreads over the anterior mediastinum covering the great vessels and it contains hundreds of miliary hemorrhages. There are no large areas of blood in the tissue. The heart is moderately dilated and filled with red clot. There is no imbibition of hemoglobin in the intima of the great vessels. The heart valves are normal, the myocardium is darker than normal and drips blood too freely. The lungs are reddish pink, though slightly darker than normal and rather moist on section. There is no pneumonia and no solid areas are seen in the lung tissue. The spleen is slightly congested and darker than normal. The kidneys are dark, congested and drip blood on section. The adrenals are apparently normal. The stomach and intestine show no abnormality. The bladder is empty and normal in appearance. The liver is large, dark and bleeds freely on section. In the retroperitoneum there is a moderately large suffusion of blood through the cellular tissue and partially involving the head of the pancreas. The brain appears normal, but section shows the tissue somewhat congested and moist.

The chief microscopical findings may be stated as follows:

The myocardium shows slight increase in hemofuscin and there seems to be an excessive fragmentation of the muscle bundles (myocardite seg-

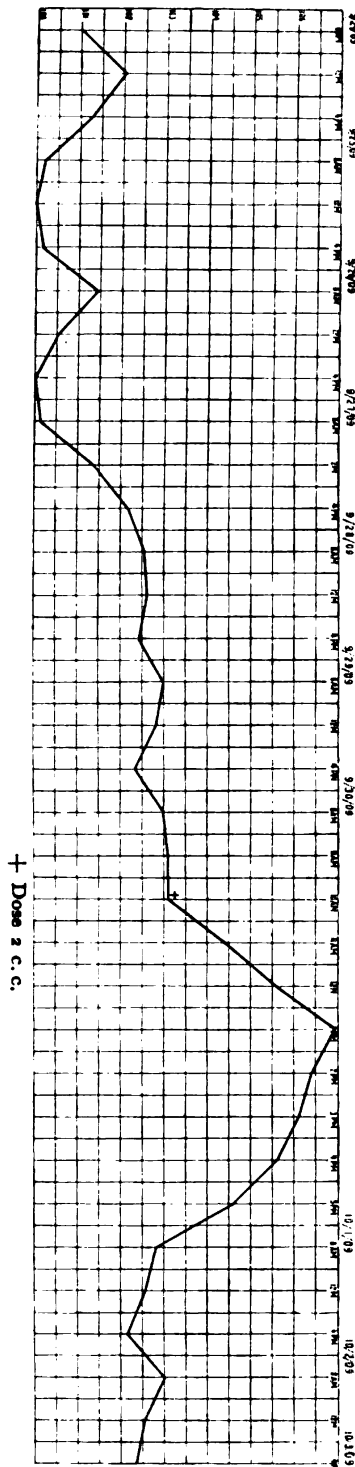
mentaire of Renault). However, this may be due to the fixing fluid. The most striking thing is the occurrence of numerous miliary hemorrhages into the muscle substance, forcing the fibres apart in places. There is a diffuse distribution of blood throughout the heart muscle, blood cells being found here and there outside the capillaries in the muscles, forcing the fibres apart as though there had been a general diapedesis. The ventricular cavity shows a homogeneous red clot. The lungs show marked acute, passive congestion and localized areas of moderate congestion. There are a few small hemorrhages near the veins along the bronchi and also beneath the pleura. The liver shows extreme passive congestion, all the capillaries being gorged with blood. The whole liver substance appears as though soaked in blood, which lies everywhere, between the liver cells and in the bile capillaries. Some of the smaller ducts contain blood. The liver cells have a cloudy appearance and the nuclei are farther apart than normal, due to the engorgement with blood. The kidneys show some cloudy swelling and marked acute passive congestion. A condition similar to that seen in the heart and liver is found throughout the kidney. The renal tissue is full of miliary hemorrhages and appears to be soaked in blood. Everywhere between the tubules and scattered throughout the parenchyma are red blood cells. Many of the glomeruli have red blood cells lying free within Bowman's capsules, and the capillaries of the tufts are extremely dilated. The epithelium of the proximal convoluted portion of the tubules is markedly desquamated. Many of the collecting tubules contain pale blood cells which have lost their hemoglobin. The pelvic fat is in part displaced by large sugillations of blood and there are a few areas of coagulated blood around the kidney capsule. The pancreas is passively congested and a portion of this organ has been included in a large clot in the retroperitoneal region and is wholly necrotic. There is also marked fat necrosis and infiltration of the tissue with blood.

In sensitized rabbits killed by injections repeated after six months Morse has found the microscopical lesions of the same character, but much less marked than those described above as resulting from acute poisoning. In fresh rabbits hemolysis and hemorrhage seem sufficient to account for death, but this does not appear to be the case in sensitized animals dying suddenly from relatively small doses.

The effects of intravenous injections of laked human red corpuscles on the temperature of rabbits.

The blood was drawn into a solution of sodium citrate and the corpuscles thrown down in a centrifuge. The corpuscles were repeatedly washed with physiological salt solution

Chart VI. Acute Fever produced in a Rabbit by an Intravenous Injection of Washed Human Blood Cells Hemolyzed.



and then dissolved in distilled water and diluted to the volume of the original blood.

One dose of 5 c. c. of this solution was injected into the ear vein of rabbit No. 7. The highest temperature of the fore period was 101.8. The effects of this injection are shown by the following figures:

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 8:00	0	101.8°
9:00	5	101.5°
11:00	0	104.2°
12:00	0	105.2°
P.M. 1:00	0	106.0°
2:00	0	105.6°
3:00	0	105.6°
4:00	0	104.7°
5:00	0	104.2°
6:00	0	104.0°
A.M. 8:00	0	101.8°

In No. 10, 2 c. c. of the same solution had the effect shown in the following:

Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M. 8:00	0	103.0°
10:00	2	103.1°
11:00	0	104.4°
12:00	0	105.6°
P.M. 1:00	0	107.0°
2:00	0	106.4°
3:00	0	106.2°
4:00	0	105.6°
6:00	0	104.6°
A.M. 8:00	0	102.8°
12:00	0	102.6°

It will be observed that this animal had a temperature of 103.1° before the injection was made. Chart VI gives this record.

In No. 11, 1 c. c. of the same solution had the following effect :

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	0	102.3°
	9:00	1	102.0°
	10:00	0	104.2°
	11:00	0	104.4°
	12:00	0	105.4°
P.M.	1:00	0	104.0°
	2:00	0	103.0°
	3:00	0	102.2°
	4:00	0	102.6°

Chart VII gives the curve in this case.

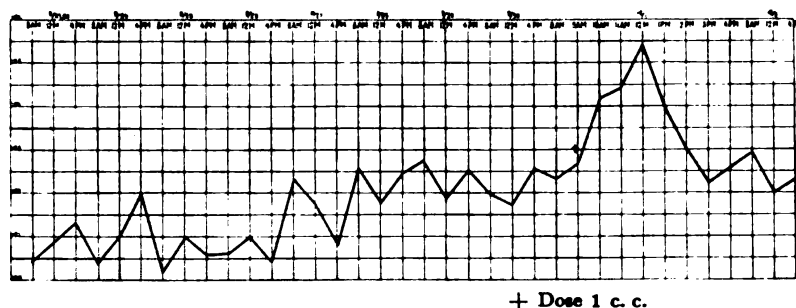


Chart VII. Acute Fever produced in a Rabbit by an Intravenous Injection of Washed Human Blood Cells, Hemolyzed.

In No. 12, 0.5 c. c. of the same solution produced the following effects:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	0	102.4°
	10:00	0.5	102.0°
	11:00	0	103.0°
	12:00	0	104.0°
P.M.	1:00	0	105.2°
	2:00	0	104.4°
	3:00	0	103.4°
	4:00	0	102.4°

The highest temperature in the fore period covering seven days was 102.6°.

In No. 17, 10 c. c. of the same solution caused a precipitate fall in temperature, and death in seven hours.

The laked blood corpuscles of either man or rabbit after filtration cause an elevation of temperature when injected into rabbits either intraabdominally or intravenously.

In rabbit No. 55, rabbits corpuscles prepared as already stated and filtered were injected intraabdominally as shown by the following figures:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	0.1	102.8°
	9:00	0.2	102.2°
	10:00	0.3	102.8°
	11:00	0.4	102.8°
	12:00	0.5	104.3°
P.M.	1:00	0.6	105.2°
	2:00	0.7	105.1°
	3:00	0.8	104.8°
	4:00	0.9	104.4°
	5:00	0	104.6°

In No. 56 the unfiltered laked corpuscles were injected intraabdominally:

	Time	Dose in c. c.	Temperature
A.M.	8:00	0.05	102.0°
	8:30	0.10	101.8°
	9:00	0.15	101.6°
	9:30	0.20	101.8°
	10:00	0.25	101.8°
	10:30	0.30	101.8°
	11:00	0.35	101.8°
	11:30	0.40	102.4°
	12:00	0.45	102.4°
P.M.	12:30	0.50	103.0°
	1:00	0.55	103.2°
	1:30	0.60	103.2°
	2:00	0.65	103.8°
	2:30	0.70	104.6°
	3:00	0.75	105.0°
	3:30	0.80	105.2°
	4:00	0.85	105.4°
	4:30	0.90	105.4°
	5:00	0.95	105.4°
	5:30	1.00	105.6°
	6:00	1.05	105.4°
	6:30	1.10	105.7°
	7:00	1.15	104.0°
	7:30	1.20	105.0°
	8:00	1.25	105.2°
	8:30	1.30	105.2°
	9:00	1.35	105.0°
	10:00	0	105.6°
A.M.	10:00	0	105.2°
P.M.	2:00	0	105.0°
	4:00	0	103.6°
	6:00	0	104.6°
A.M.	8:00	0	103.4°
	9:00	0	103.6°

The destination of egg-white introduced into the circulating blood of the rabbit.

In a recent number of this Journal (Bd. 9, p. 16) a contribution from this laboratory shows that egg-white injected into the ear vein of a rabbit soon disappears from the circulating blood and diffuses through the various tissues, from which it may be extracted with physiological salt solution and its presence demonstrated by sensitizing guinea-pigs. Since reporting on this we have found that the distribution of egg-white, injected into the blood, through the tissues extends not only to the organs mentioned in the article referred to, but also to the skin and walls of the alimentary canal.

We have also attempted to determine how long after injection egg-white can be detected in the tissues.

Three rabbits received intravenously 25 c. c. of egg-white dilution (1:1). One was killed 24 hours later and sections of its skin, kidney, brain, liver, spleen and intestinal and stomach walls rubbed up with salt solution. After standing in the cold room over night these emulsions were filtered and the filtrates injected intraabdominally into guinea-pigs. The second rabbit was killed after 48 hours, and the third after 72 hours, and their tissues treated in the same way. All the guinea-pigs that received extracts from the first and second rabbits were found to be sensitized, though none died. Choking symptoms were very marked, most pronounced in those that received extracts from the spleen and kidney. The symptoms were quite as marked in those that received the extracts from the second rabbit as in those treated with the extracts from the first. The pigs that received the extracts from the third rabbit showed absolutely no symptoms.

From these experiments we conclude that egg-white diffused through the tissues after injection into the blood becomes, sometime between two and three days, either so far changed as to lose its identity or so fixed in the tissue that it cannot be washed out with salt solution. This time interval probably varies with the kind and amount of foreign protein introduced, and in different species of animals.

The digestive action of the blood serum of rabbits in which fever has been induced with egg-white.

The following illustrates some of our experiments on the digestive action of the blood serum: The temperature of two rabbits was raised to 106° by hourly intravenous doses of a

dilution of egg-white (1:1). One hour after the last injection both of these animals were bled to death from the jugular vein and the serum obtained.

Two c.c. of this fever serum without any addition, after standing for 24 hours in the incubator, was diluted to 10 c.c. with normal salt solution and deprived of normal proteins by acetic acid and heat. The filtrate gave a slight biuret test but no Millon. At 11:15, 2.5 c.c. of the filtrate was injected intracardiacally into a guinea-pig. Temperature before the injection was 98.8°. At 11:30, 97.9° and at 11:40, 98.4°. The animal was not visibly disturbed, with the exception of slight tremor.

A second sample of 2 c.c. of this serum which had been mixed with 2 c.c. of milk and kept in the incubator for 24 hours was treated in the same way. The biuret was slight and the Millon negative. The guinea-pig was not disturbed or the temperature lowered.

A third portion of the serum mixed with an equal volume of a 2 percent solution of Witte's pepton was tested in the same way. The filtrate gave a beautiful biuret, but no Millon. The temperature of the pig fell 2.6° in 10 minutes, but otherwise the animal was not affected.

A fourth portion of the serum mixed with an equal volume of a dilution of egg-white was tested in the same way. The filtrate gave a splendid biuret and also a good Millon. The pig received only 1.25 c.c. of the filtrate, half the quantity given to the others, but it immediately developed the symptoms characteristic of the protein poison and died within five minutes. Post mortem examination showed no injury and the heart apex still beating.

We took a mixture of 2 c.c. of the fever serum and 10 c.c. of the egg-white dilution (1:1), which had stood in the incubator for five days. This was diluted to 20 c.c. and heated, after being made distinctly acid with acetic acid. After the removal of the normal blood proteins the filtrate gave both the biuret and the Millon tests very distinctly. Five c.c. of the filtrate was evaporated on the water bath and the yellowish residue extracted with 20 c.c. of absolute alcohol. The portion insoluble in alcohol was extracted with 5 c.c. of salt solution. The part soluble in salt solution responded feebly to both the biuret and the Millon tests. The part insoluble in both alcohol and salt solution, when suspended in water, did not give the biuret, but did give an intense Millon reaction, while the part soluble in alcohol gave neither. A duplication of this experiment gave identical results.

We are not ready to conclude from our work, which has been more extensive than detailed here, that the ferment of the fever serum is strictly specific. An exhaustive measurement of its specificity will take much time and close work. The digestive products probably vary much, in amount at least, with conditions, and a close study of parenteral digestion offers a promis-

ing field for research. We are inclined to think that the rabbit is a good animal in which to study parenteral digestion, and we suspect that this form of digestion is not altogether abnormal in this animal. We have shown in a recent paper (this Journal, Bd. 9, p. 16) that egg-white introduced into the stomach or rectum of a rabbit is, in part at least, absorbed unchanged into the blood. Besides, we have, observed that our laboratory rabbits when abundantly supplied with food often show a rectal temperature of 103° or over, and when the food supply is limited the temperature is lower and more constant.

The production of acute fever, followed by immunity, by repeated intraabdominal injections of bacterial suspensions.

In this group of experiments guinea-pigs have been used. The usual method has been to take a standard loop from an agar slant four days old, suspend this in 10 c.c. of normal salt solution and with a beginning dose of 0.1 c.c. of this suspension, the dose is increased by 0.1 c.c. each time and is repeated every half hour. As a basis for these experiments two guinea-pigs were treated, in the manner described, with the salt solution alone.

The result in one of these is shown in Chart VIII. The total range in this case covers 2.7° , and it is possible that these injections stimulate parenteral digestion slightly. The general agreement of the curve in kind with

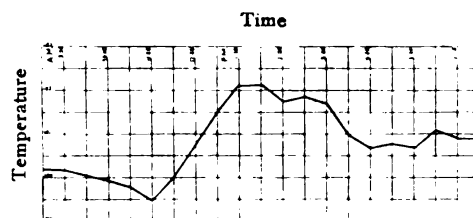


Chart VIII. Showing effect of Repeated Injections of physiological salt solution.

those to be presented later is quite as interesting, though not so striking, as its difference from them in quantity. It is worthy of note that during the continuance of these injections the temperature did not fall below the initial.

Charts IX, X, XI and XII are illustrations of the results obtained by this mode of treating guinea-pigs with suspensions of living bacteria. All the animals whose temperatures are shown in these curves recovered. Additional information con-

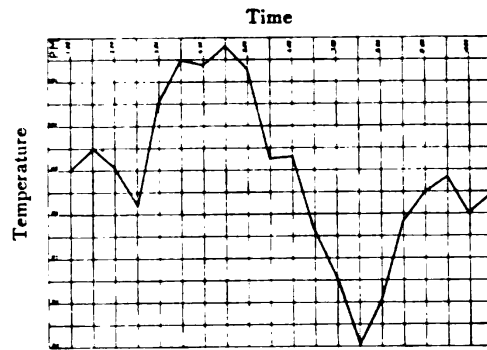


Chart IX.

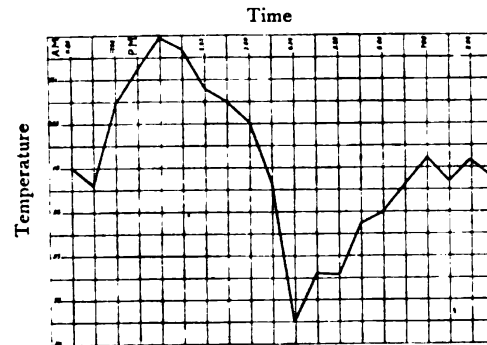


Chart X.

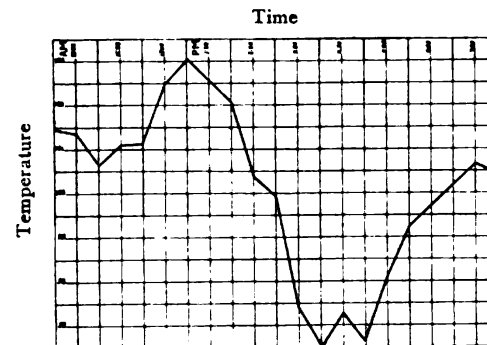
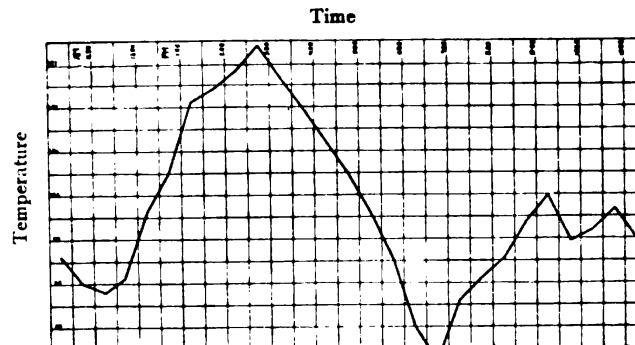


Chart XI.

Chart XII. Showing effect of Repeated Injections of *Bacillus typhosus*.

cerning these experiments is given in the tables (I to IV). The first one or two animals of each group were treated with a beef-tea culture of the bacillus twenty-four hours old. After this, we changed to the suspension in salt solution and the exact dilution used in each animal is shown in the tables. The average bacterial content of each loop is also given in the tables, and the first dose contained one one-hundredth of this number, in case the dilution was 10 c. c.

Chart IX. Showing effects of Repeated Injections of *Bacillus subtilis*.

Chart X. Showing effect of Repeated Injections of *Bacillus prodigiosus*.

Chart XI. Showing effect of Repeated Injections of *Bacillus cholerae*.

Table I. *Bacillus prodigiosus*.

No.	Strength of Suspension	Initial Temp.	First Fall	Rise	Second Fall	No. of Injections	Result of Series	Days interval	Second Injection	Result
5	24 hrs. Beef Tea	99.8	0.8	1.3	6.0	24	Died after last injection			
10	1 loop in 10 c.c. ¹⁾	99.6	0.7	1.6	6.0	17	" " "			
16	1 " 10 "	99.0	0.4	2.9	3.3	24	Recovered			
20	1 " 20 "	101.0	1.4	4.0	4.9	26	"			
131	1 " 10 "	100.4	0.5	1.0	11.2	11	"	12	2 M.L.D. Cholera	Lived
132	1 " 10 "	100.8	0.2	2.0	9.8	11	Died 12 hrs. after series			
134	1 " 10 "	100.4	0.0	2.5	14.2	21	Recovered	8	3 M.L.D. Cholera	Lived
136	1 " 10 "	100.2	0.0	0.0	9.7	20	"	8	3 M.L.D. Typhosus	Lived

1) The average loop contained 38,645,000 bacteria.

Table II. *Bacillus subtilis*.

No.	Strength of Suspension	Initial Temp.	First Fall	Rise	Second Fall	No. of Injections	Result of Series	Days interval	Second Injection	Result
4	24 hrs. Beef Tea	98.9	0.8	2.4	3.6	25	Recovered			
6	24 " " "	99.4	2.0	1.7	6.0	17	Died after last injection			
9	1 loop in 10 c.c. ¹⁾	100.8	0.7	1.8	2.3	26	Recovered			
15	1 " 10 "	100.4	0.4	2.0	2.6	24	"			
19	1 " 20 "	98.6	0.6	0.7	1.7	23	"			
135	1 " 10 "	102.2	0.5	1.8	4.1	21	"	8	2 M.L.D. Typhosus	Lived
133	1 " 10 "	101.4	0.8	1.6	4.9	21	"	8	2 M.L.D. Cholera	Lived

1) Average loop contained 16,320,000 bacteria.

Table III. *Bacillus typhosus*.

No.	Strength of Suspension	Initial Temp.	First Drop	Rise	Second Drop	No. of Injections	Result of Series	Days' interval	2nd Injection	Result
3	24 hrs. Beef Tea	98.7	0.8	2.5	(6.0 ²)	23	Died 30' after series			
8	1 loop in 10 c.c. ¹⁾	98.6	0.0	5.8	1.4	26	Recovered	6	1.0 M.L.D.	Lived
14	" " 10 "	98.7	0.2	2.5	5.1	26	"	12	1.5 M.L.D.	Lived
25	" " 10 "	97.4	3.6	3.4	3.5	24	"	7	2.5 M.L.D.	Lived
26	" " 10 "	98.7	2.7	1.5	(6.0 ²)	24	Died 16 hrs. after series ²⁾	7	2.0 M.L.D.	Lived
27	" " 10 "	97.8	2.5	3.4	2.2	24	Recovered			
54	" " 10 "	99.7	0.0	0.7	3.4	23	Died 30' after series ²⁾			
55	" " 10 "	99.8	0.2	4.7	3.7	23	Recovered	11	4.0 M.L.D.	Lived
18	" " 20 "	100.6	0.8	1.4	0.6	23	"	9	2.0 M.L.D.	Lived
139	" " 10 "	100.4	0.0	2.7	6.4	21	"	8 ²⁾	2.0 M.L.D.	Lived
140	" " 10 "	100.1	0.0	2.0	10.2	21	"	8 ²⁾	3.0 M.L.D.	Lived

1) Average loop contained 49,720,000 bacteria. 2) 2nd injection was B. Cholerae. 3) Heart's blood contains typhoid bacilli.

Table IV. *Bacillus Cholerae*.

No.	Strength of Suspension	Initial Temp.	First Drop	Rise	Second Drop	No. of injections	Result of Series	Days' interval	2nd Injection	Result
1	24 hrs. Beef Tea	99.4	2.0	2.5	(6.0 ²)	19	Died 10 hrs. after series			
2	" " 10 c.c. ¹⁾	98.7	0.8	2.5	(6.0 ²)	23	" 20 "	6	1 M.L.D.	Lived
7	1 loop in 10 c.c. ¹⁾	100.6	1.5	3.8	4.4	26	Recovered			
13	" " 10 "	99.8	0.2	1.0	(6.0 ²)	26	Died 8 hrs. after series			
17	" " 20 "	101.6	1.5	1.8	3.8	23	" 4 days "	7	3 M.L.D.	Lived
22	" " 15 "	99.8	1.0	1.4	(6.0 ²)	24	Recovered			
23	" " 15 "	98.3	1.0	2.1	(6.0 ²)	24	Died 36 hrs. after series	6	2 M.L.D.	Lived
24	" " 15 "	98.9	0.4	3.4	(6.0 ²)	24	Recovered	6	2 M.L.D.	Lived
43	" " 15 "	98.5	0.3	4.4	0.6	21	Died 12 hrs. after series ²⁾	11	3 M.L.D.	Lived
45	" " 15 "	100.6	0.8	2.6	2.4	21	Recovered			
44	" " 15 "	98.8	0.0	5.8	1.2	21	Died 2 days after series	11	4 M.L.D.	Lived
46	" " 15 "	101.2	0.8	3.6	10.6	11	Recovered	11	5 M.L.D.	Lived
47	" " 15 "	99.8	0.7	4.5	0.5	21	"			
52	1 loop 13 c.c. each dose 1 c.c.	99.8	0.6	1.7	3.7	23	Died 36 hrs. after series	7		
53	" " 10 c.c. " 1 "	100.8	0.2	1.8	6.2	23	" 12 "			
141	1 loop in 10 c.c.	100.8	0.0	2.4	11.8	21	" " "			
142	" " 10 "	100.7	0.0	3.5	14.6	21	Recovered			
143	" " 20 "	99.2	1.4	3.2	1.8	20	"	10 ²⁾	2 M.L.D.	Lived
144	" " 20 "	101.6	1.3	2.1	5.5	20	"	10 ²⁾	3 M.L.D.	Lived
145	" " 20 "	100.8	2.3	3.0	3.0	20	Died after series			

1) Average loop contained 53,310,000 bacteria. 2) 2nd injection Typhoid. 3) Heart's blood contains cholera bacilli.

It will be seen that in the large majority of the animals the first effect is a slight fall in temperature. We designate this as the primary or short fall. It should be understood that we estimate the falls and rises from the initial temperature. The short fall is followed by the primary rise. In a few instances the primary fall does not occur, or what is more probable, has not been detected. In one animal (No. 136, table I) neither primary fall nor primary rise was detected. The rise is followed by the secondary or long drop. When we began these experiments we had no thermometer which registered low temperatures, and this explains the + sign after some of the figures in the tables. We call attention to some of the great drops; for instance, Nos. 131 and 134, table I; No. 140, table III; and Nos. 46, 141 and 142, table IV. We did not suspect that this treatment would give immunity, and for this reason in our earlier work the recovered animals were not tested, nor have we as yet determined the limits of the immunity secured by these treatments. As is shown by the tables, the immunity is not, qualitatively at least, specific. Animals treated with subtilis or prodigiosus bear, at least from two to three M.L. Ds of cholera or typhoid bacilli, and the immunity secured by the latter is interchangeable.

When treated animals are inoculated with living cultures they become sick some hours before the controls, and we were reminded of the immunity induced some years ago in this laboratory with the haptophor, or non-poisonous groups of the colon and typhoid bacilli, and reported by V. C. Vaughan, Jr. (Journal Med. Research, Vol. 14, 1905, p. 67), by Vaughan and Wheeler (New York Med. Journal, June 22, 1907), and by Vaughan (this Journal, Bd. 1, 1909, p. 263).

The production of fever by repeated injections of vegetable proteins.

As was shown in this laboratory, some years ago, the vegetable proteins contain the same poisonous group as found in bacterial and animal proteins; consequently there seemed no reason why these should not induce fever, and such we have found to be true. We will give here only one illustration. We extracted 10 g of oat-meal with 100 c.c. of normal

salt solution and with a beginning dose of 0.1 c.c. of the slightly opalescent fluid thus obtained we have induced fevers similar to those already described in this paper.

We have made many experiments on the production of fever with non-protein bodies, giving especial attention to the amino acids, the xanthin group, inorganic salts of ammonia and certain carbohydrates, but a report upon these findings must be postponed.

General conclusions.

Protein fever, and this includes the great majority of clinical fevers, results from the parenteral digestion of proteins. Bouillaud (*Traité clinique et expérimentale des Fièvres*, 1826) was practically right when he said: "La fièvre est une maladie, dont la nature est toujours la même." Proteins, living and dead, occasionally find their way into the body. They may come from without or from within. Crushed bone, muscle or other tissue on being deprived of its vitality or detached from its normal surroundings becomes foreign material and must be broken up preparatory to its elimination. Under certain conditions proteins taken into the alimentary canal escape enteral digestion and are in part absorbed unbroken. When this happens, they are disposed of by parenteral digestion. In a finely divided form, as in the pollen of plants, proteins are absorbed from the respiratory tract and give rise to the condition designated as hay or rose fever. But in the great majority of instances proteins gain entrance to the body in unbroken form, as living proteins, bacteria or protozoa. The parenteral proteolytic ferments are of two kinds, non-specific and specific. The former are normally present in the blood and tissues, especially in the former, of all animals. They differ in kind in different species and in amount and efficiency in individuals. Their purpose is to break up foreign proteins that find their way into the blood and tissues. They are, within limits, general proteolytic ferments, as are those of the alimentary canal; though the variety of proteins upon which they can act is more limited. They constitute the most important factor in racial and individual immunity. Man is immune to most bacteria, not because they do not elaborate

poisons, for every protein molecule contains its poisonous group, but because they are destroyed by the general proteolytic enzymes as soon as they enter the tissue and consequently are not permitted to multiply in man's body. These non-specific, parenteral proteolytic enzymes are probably secretions of certain specialized cells. Under natural conditions these enzymes are capable of digesting those proteins upon which they do act only in small amounts, but the cells which elaborate them may be stimulated to increased activity by proper treatment, and the method detailed in this paper seems to accomplish this purpose. Whether or not these enzymes become qualitatively specific under such treatment as we have detailed can be determined only by further study. The immunity secured by these enzymes is limited in extent and transitory in duration.

The specific, parenteral proteolytic ferments are not normal products of the body cells, but are brought into existence under the stimulation of those proteins, introduced into the blood and tissues, which on account of their nature or amount escape the action of the non-specific ferments. It is to the development of these ferments that the phenomena of sensitization (wrongly called anaphylaxis) are due. A protein introduced into the blood and not promptly and fully digested by the non specific enzymes is discharged from the blood current and deposited in some tissue, the cells of which after a time develop a specific ferment which splits up this protein and is not capable of acting upon any other. For certain proteins there are certain predilection organs and tissues in which they are stored, either exclusively or most abundantly. The pneumococcus in the lungs; the typhoid bacillus in the mesenteric and other glands; the viruses of the exanthematous diseases in the skin, etc. For the development of the specific proteolytic ferments time is required, and this varies with the protein and probably with the tissue in which it is deposited. The development of these ferments necessitates changes in the chemical constitution of the protein molecules of the cell and by this means the cell acquires a new function, which subsequently is brought into operation only by contact with that protein to which its existence is due. As a result of

this rearrangement in molecular structure the cell stores up a specific zymogen which is activated by contact with its specific protein. This explanation of the phenomena of sensitization originated in this laboratory (Journ. of Infectious Diseases, June, 1907) and was not simply a fortunate guess, as has been assumed by some. The same is true of the statement made at the same time, that protein sensitization and bactericidal immunity are identical, and not antipodal, as they may appear to the superficial observer. A close study of the split products of bacterial, vegetable and animal proteins, and especially of the poisonous group found in all proteins, had already been made in this laboratory. A study of the symptoms induced by the protein poison and of those following a second administration to the sensitized animal was certainly good and sufficient ground for concluding, as then stated, that the man who dies from the administration of morphine and the one that dies from opium both owe their death to the same poison. The most valuable experiments of Friedberger and his assistants and of Pfeiffer and Mita have, in our opinion, fairly established the validity of this explanation ¹).

Whether the products of digestion with the non-specific ferments and those elaborated by the specific enzymes are identical or not remains to be ascertained. The presence of a poisonous group in the protein molecule is disclosed in both enteral and parenteral digestion, as well as by our process of splitting up the protein with dilute alkali in absolute alcohol. In the first case it appears in the pepton molecule, which is large and complex. By the chemical process it is obtained as a less complex, more diffusible and consequently more active body. Between the two there are probably several intermediate substances. The promptness in action manifested by all proteolytic ferments is determined in part at least by the proportion between the surface of the

1) In 1910 Friedberger (Berliner klin. Wochenschr., Nos. 32 and 42) has made very plain the relation between sensitization and the infectious diseases and in his address at the meeting of the German naturalists at Königsberg in Sept. 1910 (Münch. med. Wochenschr., 1910, Nos. 50 and 51) he dwelt most instructively upon the wide application of the facts learned in his studies of sensitization.

substrate and the mass. We observed some years ago (Trans. Ass. Am. Physicians, 1902) that the more finely divided the cellular substance of bacteria is, the smaller the dose which proves fatal. This is due to the greater surface exposure, and the same apparently holds good for colloids in solution. When soluble proteins are expelled from the blood and diffused throughout the animal body, the conditions for their rapid cleavage are most favorable, and consequently the fulminating phenomenon observed after the second injection into a sensitized animal.

When a protein deposited in mass is rapidly acted upon by the parenteral enzymes, more or less marked inflammation results. This may be demonstrated by injecting suspended, dead, bacterial cellular substance into the peritoneal cavity of a guinea-pig when a diffuse peritonitis results, and we wish to suggest that the exanthems are due to the rapid digestion of proteins deposited in the skin. We admit that this is largely theoretical, but we have found, as already stated, that egg-white is in part deposited in the skin of rabbits after intravenous injection. This may be an explanation of the Arthus phenomenon.

The fact that every protein molecule contains a poisonous group does not mean that the products of protein digestion must contain a poison, for the poison itself may be split up and rendered inert, as happens when the proteins in the alimentary canal are broken up into amino acids. It may therefore happen that in certain forms or stages of parenteral digestion no poison is formed.

The low temperature seen in some of our charts undoubtedly indicates the liberation of the poisonous group, and consequently the subnormal as well as the high temperature is a result of parenteral digestion, and it is in this stage that the greater danger to the life of the animal lies, as is plainly shown in our results. However, there is danger to life in the high temperature in and of itself. A rabbit is not likely to survive a temperature above 107° , and this was reached in at least one of our experiments, and closely approached in many others.

Fever must be regarded as a conservative process, although like many of nature's processes it often leads to disaster. But

its purpose is the disposal of foreign and dangerous material, and therefore must be regarded as beneficent.

In parenteral digestion the following sources of heat production must be evident: (1) The unaccustomed stimulation and consequent increased activity of the cells which supply the enzymes must be the source of no inconsiderable increase in heat production. (2) The cleavage of the foreign protein means the liberation of heat. (3) The reaction between the products of the digestion and the tissues, especially when an active and irritant poison is liberated, must lead to increased heat production. We regard the first and last of these as the more important sources of the over production of heat in the febrile state.

Zusammenfassung.

1) Kontinuierliches Fieber mit Kurven, dem des Typhus beim Menschen ähnlich, kann man bei Kaninchen durch wiederholte subkutane Einspritzungen von Eiereiweiß erzeugen. Der Stickstoff im Harn nimmt zu und das Volumen des Harns ist vermindert. Allmähliche Kachexie tritt ein, aber Genesung folgt einer Unterbrechung der Behandlung.

2) Akutes Fieber, manchmal tödlich wirkend, wurde beim Kaninchen durch intravenöse Einspritzungen geringer, zunehmender Dosen von Eiereiweiß erzeugt. Dies geschah bei frischen sowohl als bei überempfindlichen Tieren.

3) Es wurde akutes Fieber durch intravenöse Einspritzungen hämolysierter Blutkörperchen vom Menschen sowie auch vom Kaninchen erzeugt.

4) Das Fieberserum digeriert das homologe Eiweiß in vitro, aber die Reaktion ist nicht streng spezifisch.

5) Akutes Fieber mit darauf folgender Immunität wurde bei Meerschweinchen durch halbstündige Injektionen von Suspensionen lebender Bakterien in Salzlösung erzeugt.

6) Die Immunität, welche diesen Einspritzungen folgt, ist wenigstens qualitativ nicht spezifisch.

7) Folgende Schlüsse werden gezogen:

a) Fieber ist ein Resultat parenteraler Digestion des Eiweißes.

b) Es gibt zweierlei parenterale proteolytische Enzyme, das eine spezifisch, das andere nichtspezifisch.

c) Die Produktion der nichtspezifischen Enzyme kann, nach den dargestellten Methoden, beträchtlich und schnell stimuliert werden.

d) Die Entwicklung der spezifischen Enzyme erfordert eine viel längere Zeit.

e) Erstere sind humoraler Herkunft, letztere entstehen aus dem fixen Gewebe. Erstere wirken im Blutkreislauf, letztere nur in situ, und nur dann, wenn die Zellen, welche sie produzieren, von dem spezifischen Eiweiß erreicht werden.

f) Wie schon im Jahre 1909 in dieser Zeitschrift bemerkt wurde (Bd. 1, p. 282), sind „Ueberempfindlichkeit und Immunität gegenüber Bakterien verschiedene Erscheinungsformen desselben Prozesses“.

g) Fremde Eiweißstoffe, in das Blut eingeführt, ob lebend oder getötet, geformt oder in Lösung, verschwinden zum größeren Teile aus dem Blutkreislaufe und werden in verschiedenen Geweben, deren Zellen die spezifischen Enzyme für die Digestion der fremden Eiweißstoffe erzeugen, deponiert. Für verschiedene Eiweißstoffe gibt es gewisse prädilektive Gewebe, in welchen sie deponiert werden, und die Symptome und Läsionen der verschiedenen Krankheiten sind vielfach durch die Gewebe, in welchen die fremden Eiweißstoffe deponiert und welche folglich ihnen gegenüber überempfindlich werden, bestimmt.

h) Die unternormale Temperatur, welche dem Fieber folgen kann, ist eine Folge der giftigen Wirkung der Produkte der parenteralen Digestion.

i) Fieber per se muß als ein Erhaltungsprozeß betrachtet werden, aber ähnlich vielen anderen natürlichen Prozessen wirkt es oft deletär.

j) Die Quellen der abnormalen Wärmeproduktion beim Fieber sind offenbar:

1. die aus der intensiveren Tätigkeit der enzymproduzierenden Zellen entstehende,
2. die aus der Spaltung des fremden Eiweißstoffes entstehende, und
3. die aus der Reaktion zwischen dem Spaltungsprodukt des fremden Eiweißstoffes und den Zellen des Körpers entstehende.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der
Universität Bern; Direktor: Prof. Dr. Kolle.]

**Untersuchungen über die auf verschiedene Weise her-
gestellten Tetanusheilsersa mit Hilfe von Immunitäts-
reaktionen und Tierversuchen.**

(I. Mitteilung.)

Von Dr. **Walter Schürmann** und Dr. **Erich Sonntag**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. März 1911.)

Die Ergebnisse unserer auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Kolle angestellten Untersuchungen haben wir in 2 Teilen zur Wiedergabe gebracht. Im vorliegenden 1. Teil wird über Komplementbindungsversuche berichtet. In dem in Kürze hier zu veröffentlichenden 2. Teil sollen die vergleichenden Studien, welche wir bezüglich Agglutinations-, Präzipitations- und immunisatorischer Wirkungen der auf verschiedene Weise hergestellten Tetanusheilsersa anstellten, mitgeteilt werden.

1. Teil.

Die komplementbindenden Eigenschaften des Tetanusheilsersums.

Das Tetanusheilsersum stellt bekanntlich ein antitoxisches Immunserum dar. Es wird gewonnen durch aktive Immunisierung von Tieren mit dem Tetanustoxin, d. h. mit dem in älteren Bouillonkulturen entstandenen sporenfreien Tetanusgift.

In einigen Instituten, welche sich mit der Herstellung von Heilseris beschäftigen, z. B. im Schweizer Serum- und Impfinstitut zu Bern, wird zur Immunisierung neben Toxin auch Bakterienkultur, welche lebende und abgestorbene Tetanusbacillen, sowie auch eine reichliche Menge Sporen enthält, verwandt.

Daß nun erhebliche Unterschiede zwischen den mit reinem, d. h. filtriertem und sporenfreiem Toxin und den mit nicht filtrierten Bakterienkulturen hergestellten Sera bestehen, war durch vor einer Reihe von Jahren im hiesigen Institut unter Tavel's Leitung angestellte Studien von Bruckner wahrscheinlich gemacht. Bruckner (1) fand nämlich bei mit Toxin und Kulturbodensatz vorbehandelten Pferden und Kaninchen eine markante Agglutinationswirkung der Sera, welche selbst in einer Verdünnung von 1:1000 noch schärfer hervortrat als die Agglutinationswirkung eines Serums von allein mit Toxin vorbehandelten Kaninchen in der Verdünnung von nur 1:10; im Anschluß daran spricht er die Vermutung aus, daß im Gegensatz zu den nur mit Toxin gewonnenen Sera in den mit Toxin und Sporen hergestellten neben Agglutininen noch andere Immunkörper tätig sein können, welche gegen die deletäre Wirkung der Tetanusinfektion gerichtet sind, und daß einem solchen Serum der Vorzug vor anders dargestellten gegeben werden müsse.

Im Hinblick auf die verschiedenartigen und meist recht unvollkommenen Erfolge der Serumbehandlung des Tetanus beansprucht die in der erwähnten Arbeit angeschnittene Frage Beachtung und Prüfung. Denn die Bemühungen, die Hindernisse zu beseitigen, welche die Besonderheiten des klinischen Verlaufs der Tetanusinfektion einer wirksamen Serumtherapie entgegensetzen, haben uns nicht zum gewünschten Ziele gebracht.

Man hat in diesem Bestreben zunächst versucht, beim Tetanus eine Frühdiagnose zu stellen, und zwar noch in der Inkubationszeit, ehe das Toxin Zeit hatte, lange auf die Zelle einzuwirken und mit ihr eine feste Bindung einzugehen. Aber auch die Heranziehung der neueren serologischen Methoden war hierbei nicht von Erfolg begleitet; so fand Kreuter (2) weder die Komplementbindungs- noch die Antihämolysinmethode für die Diagnose verwertbar. Andere Bestrebungen, die ungenügende Wirksamkeit des Tetanusheilsersums zu verbessern, berücksichtigten die spezielle Art des Angriffes des Tetanusgiftes und der Verbreitung des eingeführten Heilsersums im Organismus. Um eine geeignete Einwirkung des Antitoxins auf das Toxin zu ermöglichen, hat man die Applikationsform des Tetanusheilsersums variiert; in dieser Hinsicht verdient die intraneurale Methode besondere Beachtung. Das lokal, sowie subkutan, intramuskulär und intravenös angewandte Serum vermag nur das am Ort, bzw. im Blut kreisende Toxin abzufangen, aber nicht dem Toxin auf dem Wege längs der

Nerven zu folgen. Die intracerebrale und intradurale Injektion kann im Hinblick auf die sehr feste Bindung des Toxins im Zentralnervensystem die deletäre Wirkung des Toxins meist nicht mehr aufheben. Dagegen läßt sich von dem intraneural eingespritzten Antitoxin eine Sperre der Toxinzufuhr aus dem befallenen Nervengebiet und dadurch ein Schutz der gefährdeten Zentren erwarten. Die günstige Wirkung der intraneuralen Methode hat sich experimentell und klinisch bestätigt [vergl. Sawamura (3)].

Diese Bestrebungen, welche der Besonderheit der Pathogenese des Tetanus Rechnung tragen, haben uns nun zwar einen guten Schritt vorwärts gebracht. Aber die Erfolge der Serumtherapie des Tetanus bleiben immerhin noch recht unvollkommene, namentlich hinsichtlich des therapeutischen Effekts. Es wäre daher nur zu wünschen, daß der Grund des Mißerfolges nicht so sehr in einer Besonderheit der Tetanusaffektion, als vielmehr in der Unzulänglichkeit des Heilserums zu suchen, und die Versuche, letzteres zu verbessern, von Erfolg gekrönt wären.

Wenn wir nun diese Frage untersuchen, müssen wir erst einmal erörtern, was bei der Tetanusinfektion die Serumtherapie überhaupt zu leisten imstande ist und auf welche Gesichtspunkte, d. h. gegen welche Angriffe auf den Organismus eine rationelle Therapie gerichtet sein muß.

Die deletäre Wirkung beim Tetanus wird durch das Toxin bedingt. Das gegen Tetanus gerichtete Heilserum muß daher ein antitoxisches sein und seine Wertigkeit nach dem Gehalt an Antitoxineinheiten bemessen werden. Das in solchem Heilserum enthaltene Antitoxin vermag nachgewiesenermaßen das Tetanustoxin zu neutralisieren, wobei eine Bindung zwischen Toxin und Antitoxin stattfindet und die giftempfindlichen Zellen des Zentralnervensystems vor dem Gift bewahrt werden. Voraussetzung für die neutralisierende Wirkung des Antitoxins ist aber, daß es frühzeitig eingeführt wird, ehe das Toxin von den Zellen fest verankert ist. Freilich vermag das Tetanusantitoxin nicht nur im Blute frei zirkulierendes Toxin zu entgiften, sondern auch schon gebundenes zu lockern und aus seiner Verbindung auszutreiben. Aber je länger der Zeitraum zwischen Toxin- und Antitoxinzufuhr ist, d. h. je fester das Toxin in der Zelle gebunden ist, desto schwerer gelingt die Entgiftung, und nach einer gewissen, und zwar ziemlich kurzen Zeit, ist es überhaupt nicht mehr möglich, trotz Einspritzung größter Mengen Antitoxin, irgendeine Heilwirkung zu entfalten. Die Heilwirkung des Tetanusserums ist also eine sehr beschränkte und jedenfalls überhaupt nur erfolgreich, wenn die Anwendung frühzeitig stattfindet.

Was die Schutzwirkung des Tetanusserums angeht, so ist dieselbe, wie experimentelle und klinische Beobachtungen ergaben, recht beachtenswert. Man hat angenommen, daß dieselbe ebenfalls durch den Gehalt an Antitoxin entfaltet wird. Da es sich aber beim Tetanus um eine bakterielle Infektion handelt, so ist die Frage, ob sich nicht, namentlich prophylaktisch und im Beginne der Affektion, außer von Antitoxinen auch von antibakteriellen Immunstoffen eine günstige Wirkung erhoffen läßt und ob nicht mit Toxin und Bakterienkulturen gewonnene Immunsera mehr leisten als nur mit Toxin hergestellte.

Wir haben es daher unternommen, diese Frage an Hand der uns vom Schweizer Serum- und Impfinstitut zur Verfügung gestellten Pferdeheilsersa experimentell zu untersuchen. Ob durch Verwendung von sporenhaltigen Bakterienkulturen neben Toxin an Stelle des Toxins allein bei der Gewinnung der Immunsera eine gesteigerte Wirkung, namentlich in prophylaktischer Beziehung erreicht werden kann, wird auf Grund von Tierversuchen im zweiten Teil untersucht werden. Hand in Hand damit ging die Ermittlung, ob und in welchem Umfange sich in den mit sporenhaltigen Bakterienkulturen und Toxin einerseits und in den mit Toxin allein gewonnenen Immunsera andererseits antibakterielle Immunkörper nachweisen lassen, ob in dieser Hinsicht zwischen den beiden Serumtypen bemerkenswerte Unterschiede bestehen und wie weit die antibakteriellen Immunkörper untereinander und mit dem Antitoxingehalt parallel gehen. — Wir beginnen mit den komplementbindenden Stoffen.

Die komplementbindenden Eigenschaften des Tetanusheilsersums.

Die Aufgabe dieses Teils der vorliegenden Arbeit war zu untersuchen, einmal ob sich in den geprüften Tetanusheilsersa spezifische komplementbindende Stoffe nachweisen lassen, und zutreffendenfalls, ob der Gehalt an solchen ein irgendwie gesetzmäßiger ist, insbesondere, ob er mit der Wertigkeit, d. h. dem Antitoxingehalt der Immunsera parallel geht und ob ein Unterschied ersichtlich ist zwischen den mit sporenhaltigen

Bakterienkulturen und den mit Toxin allein gewonnenen Immunsera.

Ehe wir auf die in der Literatur bereits niedergelegten anderweitigen und auf die eigenen Untersuchungen eingehen, müssen wir feststellen, ob und welche Bedeutung das Vorkommen spezifischer komplementbindender Stoffe in Heilsera hat und wie weit ein Rückschluß von ihrem Gehalt auf die Schutz- und Heilwirkung angängig ist.

Komplementbindende Stoffe, und zwar spezifische, sind zwar nicht in allen, aber doch in zahlreichen Immunsera nachgewiesen worden. Vergl. die Zusammenstellungen bei Sachs und Altmann (1), Citron (2) und Meier (3). Inwieweit aber die Bestimmung der komplementbindenden Stoffe in einem Immunserum für den Schutz- und Heilwert verwendet werden darf, ist noch Gegenstand der Diskussion. Die Frage wird ihre endgültige Entscheidung nur auf Grund praktischer Erfahrung finden dürfen. Theoretisch ist sie bis jetzt um so weniger zu entscheiden, als unsere Kenntnisse von dem Wesen der komplementbindenden Stoffe noch lücken- und zweifelhaft sind. Daß diese komplementbindenden Stoffe, die sogenannten Bordet-Gengouschen Reaktionskörper, Ambozeptoren sind, ist nicht notwendig. Wir wissen, daß Ambozeptoren zwar Komplement binden, aber andererseits auch, daß nicht alle komplementbindenden Stoffe Ambozeptoren sind. Freilich kann die Tatsache allein, daß die komplementbindenden Stoffe im Gegensatz zu den sonstigen Ambozeptoren auch Affinität zu den unspezifischen Lipoiden zeigen, nicht ohne weiteres zur Annahme einer prinzipiellen Verschiedenheit berechtigen, läßt sich vielmehr auch so erklären, daß genannte unspezifische Lipoidaffinität neben der spezifischen Ambozeptorwirkung einhergeht. Ferner muß hinsichtlich der Anwendung der Komplementbindung zur Wertbemessung von Heilsera beachtet werden, daß die bei der Immunisierung als Ziel erstrebte Fähigkeit der Sera, die Bakterien zu vernichten, in den verschiedenen Immunsera durch verschiedene Körper bedingt sein kann, und daß in der Regel wohl auch die Schutz- bzw. Heilwirkung auf dem Zusammenwirken mehrerer Faktoren beruht. Es müssen also die verschiedenen Immunkörper sowie ihr gegenseitiges Verhältnis berücksichtigt werden. Was das Verhältnis

der komplementbindenden Stoffe zu den sonstigen Immunkörpern angeht, so darf wohl in manchen Fällen ein weitgehender Parallelismus mit gewissen, besonders mit den Präzipitinen und bei den antibakteriellen Immunsersa nach Ballner und Reibmayr (4) auch mit den Agglutininen erwartet werden; aber dieser Parallelismus ist durchaus nicht konstant, zeigt vielmehr qualitative und quantitative Unterschiede; vergl. Meier, l. c. Mit dieser Tatsache, daß ein konstanter Parallelismus zwischen den komplementbindenden Stoffen und den sonstigen für Schutz- und Heilwert in Frage kommenden Stoffen, speziell den Bakteriolytinen, bisweilen vermißt wird, begründen einige Autoren (vergl. Meier, l. c.) ihren ablehnenden Standpunkt gegenüber der Komplementbindungsmethode zur Heilsersabewertung. Genannte Beobachtungen können aber nicht allein ihre Abweisung begründen, da, wie erwähnt, für Schutz- und Heilwert verschiedene Immunkörper und zwar wohl in verschiedenem Anteil zur Wirkung gelangen können.

Für einige Immunsersa ist die Brauchbarkeit der Komplementbindungsmethode, zumal im Verein mit anderen Immunitätsreaktionen angewandt, sehr wahrscheinlich gemacht. Von Kolle und Wassermann (5) ist ein exakt arbeitendes Verfahren zur Wertbestimmung des Meningokokkenimmunsersums durch die Komplementbindungsmethode ausgearbeitet worden; die nach diesem Verfahren als hochwertig gefundenen Sera sollen nach Neufeld (6) auch im Phagocytoseversuch den höchsten Titer aufweisen. Ruppel (7) benutzt die Komplementbindungsmethode zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Antituberkulin in dem Höchster Tuberkuloseserum, welches durch Behandlung mit Tuberkulin gewonnen wird, nachdem die Tiere zuvor durch Injektion von lebenden Tuberkelbacillen empfindlich gemacht sind.

Die praktischen Erfahrungen zugunsten der Komplementbindung und die oben genannten theoretischen Erwägungen lassen es jedenfalls als berechtigt und notwendig erscheinen, die Immunsersa auf ihren Gehalt an komplementbindenden Stoffen zu prüfen.

Wenn wir nunmehr zum Tetanusheilsersum übergehen, so ist die erste Frage, ob in ihm überhaupt komplementbindende Stoffe nachweisbar sind. Für die natürliche und experimentell erzeugte Krankheit kommen sie anscheinend nicht in Betracht, so daß sie auch nicht zur Diagnose herangezogen

werden können. Maragliano (8) fand die Resultate der Komplementbindungsversuche unbeständig. Kreuter (9) konnte bei künstlich infizierten Tieren weder mit Bakterien noch mit Toxin noch mit Organextrakt als Antigen einen positiven Ausschlag erzielen. Was das Immunserum angeht, so muß die Frage hier nach folgenden Gesichtspunkten betrachtet werden: ob sich hier komplementbindende Stoffe nachweisen lassen, ob sie spezifisch sind, ob sie sonstigen Eigenschaften der Immunsera, speziell der Wertigkeit, parallel gehen, ob sie bei Verwendung von Bakterien oder von Toxin als Antigen erscheinen und wie die Sera bei verschiedener Immunisierung, und zwar einmal bei Vorbehandlung mit Toxin allein, dann bei Vorbehandlung mit Bakterien reagieren.

Zu letzterem Punkte sei bemerkt, daß Altmann (c. Sachs und Altmann) im Höchster bakteriziden Diphtherieserum komplementbindende Stoffe nachwies. Ueber erstgenannte Punkte liegen nur spärliche Beobachtungen vor. Kreuter (l. c.), welcher neben Krankensera einige Höchster und Berner Heilsera untersuchte, erzielte niemals Komplementbindung weder mit Bakterien noch mit Toxin als Antigen; er reiht daher den Tetanusbacillus in die Gruppe derjenigen Infektionserreger ein, welche keine komplementbindenden Stoffe erzeugen. Nicolle und Pozerski (10) fanden bei mit Tetanus und Diphtherietoxin behandelten Meerschweinchen Komplementbindung. Da bei Normaltieren überhaupt kein und bei den vorbehandelten Tieren nur mit dem homologen Toxin ein positiver Ausschlag erfolgte, so halten sie die Komplementbindung für spezifisch. Sie glauben ferner zu der Annahme berechtigt zu sein, daß diese komplementbindenden Stoffe die gegen die Toxine gerichteten Lysine sind, daß ihr verschiedenes Verhältnis zu den in den Antitoxinen verkörperten Koagulinen das eine Mal Immunität, das andere Mal Anaphylaxie bedingt und daß bei ihren Fällen, da die Tiere nach einer gewissen Zahl von Injektionen teils spontan starben, teils sich gegen eine tödliche Dosis nicht immun erwiesen, Anaphylaxie vorliegt¹⁾. Armand-Delille bestätigt die Befunde von Nicolle und

1) Sie stützen ihre Annahme auf folgende Erwägungen:

Die Antigene lassen sich einteilen in Zellen, Eiweißstoffe und lösliche Toxine, die Antikörper in Koaguline und Lysine. Und zwar treten als Koaguline bzw. Lysine auf: gegenüber den Zellen die Agglutinine bzw. Cytolysine, gegenüber den Eiweißstoffen die Präzipitine bzw. komplementbindende Stoffe, gegenüber den löslichen Toxinen die Antitoxine bzw. komplementbindende Stoffe.

Die Koaguline bekämpfen die Antigene, ohne Gift aus ihnen frei zu machen, die Lysine dagegen lösen die Antigene mit Hilfe von Komplement, wobei aus den Antigenen Gifte (z. B. aus Bakterien die Endo-

Pozerski für Pferdeimmunsera; er fand in Diphtherie- und Tetanusheilsersa neben den Antitoxinen spezifische komplementbindende Stoffe, aber nicht in gleicher Stärke und Konstanz bei den einzelnen Sera, und zwar ausgesprochen nur bei Tieren mit anaphylaktischen Symptomen. Er nimmt einen direkten Zusammenhang zwischen Komplementbindung und Anaphylaxie an; dagegen war ein Parallelismus zwischen Komplementbindung und Antitoxingehalt nicht nachweisbar. Poujol und Delanoe (12) konnten bei mit Diphtherietoxin hochimmunisierten Pferden keinen positiven Ausfall nachweisen; in ihren Fällen lagen anaphylaktische Erscheinungen nicht vor.

Bevor wir über unsere mit Tetanusheilsersa angestellten Komplementbindungsversuche berichten, müssen wir noch einige allgemeine und besondere Bemerkungen über Methodik und Technik der Reaktion einfügen; im übrigen verweise ich auf die Ausführungen von Sachs und Altmann, Citron und Meier (l. c.). Sowohl praktisch aus den daselbst aufgezählten Arbeiten, wie theoretisch aus dem Wesen, speziell der Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion ergibt sich die Tatsache, daß der Ausfall der Versuche je nach

toxine) frei werden. Das Verhältnis der bei der Antigeneinfuhr entstehenden verschiedenen Antikörper, d. h. Koaguline und Lysine, kann nun ein verschiedenes sein und je nach dem Ueberwiegen des einen oder anderen entsteht einmal Immunität (Koaguline!), das andere Mal Anaphylaxie (Lysine!).

Warum in dem einen Fall mehr Koaguline, in dem anderen Fall mehr Lysine entstehen, hängt von verschiedenen Umständen ab: von der Art und Zubereitung des Antigens, von der Methode der Immunisierung, von Tierart, Alter, Individuum etc.

Beim Meerschweinchen bedingen tägliche geringe Toxindosen meist Ueberempfindlichkeit. Auch beim Pferd ist eine mehr oder weniger ausgesprochene Ueberempfindlichkeit die Regel. Diese erklärt auch das Behring'sche Phänomen, d. h. die Beobachtung, daß mit Toxin immunisierte Pferde trotz hohen Antitoxingehalts im Blut einer kleinen Toxingabe erliegen können. Die Ueberempfindlichkeit scheint beschränkt werden zu können bei kleinen wiederholten Dosen (im Gegensatz zu großen in längeren Zwischenräumen) und bei Verwendung von jodiertem Toxin. Die Ueberempfindlichkeit zeigt sich in mäßigen bis ausgebildeten Oedemen, Temperaturschwankungen, Zittern, Muskelschwäche, eventuell Tod. Diese Wirkung des anaphylaktischen Giftes unterscheidet sich von der des Tetanusgiftes nicht nur durch die Symptome, sondern durch das Fehlen des für letzteres charakteristischen Inkubationsstadiums. Die Giftwirkung ist bedingt durch Toxinolysine und hat auch nichts zu tun mit Endotoxinwirkung der betreffenden Bakterien. Während letztere für den Erreger spezifische Wirkungen auslösen, zeigen die durch die Toxinolyse frei gewordenen Gifte bei Diphtherie und Tetanus große Aehnlichkeit in ihrer Wirkung.

Methodik und Technik ein sehr verschiedener sein kann. Neben der Beschaffenheit des als Indikator der Reaktion verwandten hämolytischen Systems, auf die unten eingegangen wird, ist in dieser Hinsicht die Dosierung von Antigen und Antikörper von entscheidender Bedeutung, und zwar zur Erzielung sowohl positiver als auch spezifischer Resultate. Was letzteren Punkt angeht, so ist bei der Komplementbindung wie überhaupt bei den biologischen Methoden, speziell bei den als hervorragend spezifisch geltenden Immunitätsreaktionen der Agglutination und Bakteriolyse zur Erzielung spezifischer Ausschläge notwendig, quantitativ zu arbeiten. Denn einmal sind bereits im Normalserum alle die Stoffe, welche durch den Immunisierungsprozeß in spezifischem Grade vermehrt werden; jedoch treten sie bei den kleinen Dosen, deren Anwendung die hohe Empfindlichkeit der Komplementbindung gestattet, wenig oder gar nicht in Aktion. Die bisweilen stark ausgesprochene Komplementbindung von Normalsera beruht meist nicht auf dem Vorhandensein spezifischer Stoffe, da diese auch allein oder in Verbindung mit nicht homologem Antigen, z. B. irgendeinem Lipoid, die Hämolyse hemmen. Andererseits ist auch die Spezifität des Antigens begrenzt durch die Erscheinung der Rezeptorengemeinschaft nahe verwandter Arten (sogenannte Gruppen-, Mit- oder Partialreaktion). Beide Störungen der Spezifität lassen sich aber entsprechend den Tatsachen, daß die Antikörper im Normalserum in relativ geringer Menge vorhanden, und daß für die Mitreaktion relativ große Mengen Reaktionskörper notwendig sind, durch Arbeiten in quantitativer Weise vermeiden, um so mehr, als die hohe Spezifität bzw. weitgehende Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion ein Herabgehen zu kleinen Dosen gestattet. Es ergibt sich also als erste Forderung für die Methodik unserer Versuche ein quantitatives Arbeiten, sei es, daß Antigen, sei es, daß Antikörper in fallenden Dosen eingestellt werden.

Als zweite Forderung gesellt sich dazu das Variieren der Dosen. Denn wie alle Immunitätsreaktionen ist auch die Komplementbindung nicht von der absoluten Menge der Reagentien abhängig, sondern von einem bestimmten Verhältnis ihrer Mengen. Ein Ueberschuß oder ein Mangel eines der

beiden Reagentien kann den positiven Ausfall der Reaktion verhindern, wohingegen ein Optimum des Verhältnisses ihn in Erscheinung treten läßt. Während die untere Grenze für die absolute Menge durch die quantitative Bestimmung zu ermitteln ist, wird die Wahl der oberen Grenze durch die eigenhemmende Wirkung der Reagentien beschränkt. Als allgemeine Regel gilt, daß man höchstens mit solchen Dosen arbeiten darf, die auch in der doppelten Menge allein die Hämolyse nicht hemmen, indem man damit auch der Summierungsmöglichkeit beider eigenhemmender Effekte vorbeugt. Die Einzelwirkungen brauchen sich aber nicht immer zu summieren, sie können auch einander paralisieren, wie solches bei der Wassermannschen Reaktion bekannt ist. Daher braucht man genannte Regel nicht allzu wörtlich zu befolgen; man wird vielmehr für jeden Fall die vorliegenden Verhältnisse durch Vor- und Tastversuche erforschen.

Ueber die von uns angewandte Technik bemerken wir im einzelnen folgendes:

Zum Nachweis der Antikörper wurde das durch Venenpunktion gewonnene Blutserum von Pferden bzw. Kaninchen verwandt; die Tiere wurden teils nur mit Toxin, teils zunächst mit Toxin und später mit Kulturen, d. h. Toxin und Sporen, immunisiert. Das Serum kam entweder frisch oder kurze Zeit (höchstens einige Wochen) im Eisschrank in zugeschmolzenen Glastuben aufbewahrt zur Untersuchung, bei einigen Tetanus- und sonstigen Immunsera des Handels auch mit 0,5 Proz. Karbol versetzt. Kurz vor der Verwendung wurde das Serum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 55—56° inaktiviert. Für längere Aufbewahrung erschien am geeignetsten die Konservierung mit Karbolzusatz. Zum Versuch wurden fallende Dosen Serum von 0,3—0,01—0,001—0,0001 angewandt. Normalambozeptoren für Hammelblutkörperchen konnten in diesen Dosen nie nachgewiesen werden. Eigenhemmende Wirkung wurde bisweilen beobachtet teils bei alten faulenden Sera, teils bei frischen aktiven und selten bei inaktivierten Sera von Pferden und in höherem Grade bei solchen von Kaninchen. Solche Sera müssen bei der Beurteilung ausgeschlossen werden.

Als Antigen wurde sowohl Bodensatz von sporenhaltigen Bouillonkulturen als auch Toxin benutzt. Als Ausgangspunkt für Kulturen und Toxin diente sowohl bei der Immunisierung wie bei der Untersuchung ein und derselbe Stamm (Stamm B Göldner Frankfurt). Die Kulturen wurden in der für Tetanusbacillen geeigneten Bouillon angelegt. Nach der Impfung wurden die Nährböden mittels Wasserpumpe luftleer gemacht und die an beiden Enden der Flaschen befindlichen langen Kapillaransätze von leicht schmelzbarem Kaliglas zugeschmolzen. Die Kulturen wurden bis zur deutlichen Trübung des Nährmediums bei 37,5° ca. 14 Tage bebrütet und vor

der Verwendung geprüft. Zur Gewinnung des Toxins wurde die Kultur zunächst durch Papier filtriert, mit 0,5 Proz. Phenol versetzt, am nächsten Tage nochmals durch Reichefilter getrieben und unter Toluol aufbewahrt. Die Antigene kamen teils frisch hergestellt, teils kurze Zeit (höchstens einige Wochen) dunkel und kühl aufbewahrt, zur Verwendung. Der Bodensatz wurde möglichst von jedesmal gleicher Dichte gewählt. Bodensatz und Toxin wurden vor jeder Reaktion durch Vor- und Tastversuche eingestellt. Durch Vorversuche wurde die alleinhemmende und die alleinlösende Wirkung bestimmt (für letztere erwies sich übrigens Komplementzusatz ohne Belang). Durch Tastversuche wurde die optimale Dosis für die Komplementbindung ermittelt. Als allgemeine Regel galt dabei, unter der Hälfte der allein nicht mehr bindenden Dosis zu bleiben. Wurde ein durchweg negativer Ausschlag erzielt, so wurde versucht, durch vorsichtiges Steigern der Antigendosis einen positiven Ausschlag hervorzurufen. Namentlich bei dem Toxin wurde näher an die Grenze der eigenhemmenden Wirkung des Antigens herangegangen, um kräftigere Ausschläge zu erzielen. Dabei ist aber wohl zu bedenken, daß bei zu hoher Dosis des Antigens und bei Eigenhemmung derselben einige Sera im Versuch Hemmung aufweisen, andere nicht, und daß in diesem Fall ein positiver Ausschlag nicht durch das Vorhandensein spezifischer Reaktionskörper, sondern vielmehr durch den Mangel sog. auxylischer, d. h. die Hämolysse befördernder Stoffe im Serum bedingt sein kann. Neben der Eigenhemmung beansprucht für die Wahl der Antigendosis die optimale, mit Serum komplementbindende Wirkung Berücksichtigung; es kommt vor, daß bei Variieren der Antigendosis nur eine bestimmte Dosis Ausschläge gibt, eine höhere und eine niedrigere aber nicht, und daß bei Variieren der Serumdosis in den ersten und letzten Dosen keine und in den mittleren Dosen eine zu- und wieder abnehmende Hemmung auftreten kann (vgl. Tabelle V).

Als hämolytisches System diente das allgemein gebräuchliche, bestehend aus Hammelblutkörperchen, Kaninchenambozeptor und Meer-schweinchenkomplement, die verwandte Kochsalzlösung war eine sterile, 0,85-proz.

Die Hammelblutkörperchen kamen in der konstanten Dosis 0,05 zur Verwendung, und zwar bezogen auf eine entsprechend dem abgenommenen Serum mit Kochsalzlösung aufgefüllte Aufschwemmung; mit Rücksicht auf Fragilitätsänderung wurden nur frische Erythrocyten und solche von wenig und abwechselnd gebluteten Tieren benutzt.

Für die Gewinnung des hämolytischen Ambozeptors erwiesen sich uns verschiedene Methoden als brauchbar, z. B. peritoneale Injektion von 5,0, 10,0 und 15,0 an drei aufeinanderfolgenden Tagen oder von 20,0 und 30,0 mit einigen Tagen Zwischenraum, ferner besonders die intravenöse Injektion von 1,5—2,5 zwei- bis dreimal. Mit jeder dieser Methoden erhielten wir Titer von 0,001. Die Konservierung des Ambozeptors erfolgte in flüssigem Zustande mit 0,5 Proz. Phenolzusatz.

Das Komplement nahmen wir stets frisch, wohingegen die französischen Autoren 9—14 Tage altes Komplement vorzogen, welches zwar schwächer, aber gleichmäßiger wirksam sein soll.

Vor jedem Versuch erfolgte die Titrierung des hämolytischen Systems, und zwar des Komplements, wobei der Ambozeptor in der dreifachen vorher ermittelten Grenzdosis und die Erythrocyten frisch in der Dosis 0,05 genommen wurden; das Resultat wurde nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° und 1/4 Stunde bei Zimmertemperatur abgelesen. Zum Komplementbindungsversuch stellten wir die zweifache Grenzdosis ein (meist 0,003—0,04—0,05). Mit der Komplementtitrierung, die jedem Versuch vorausging, erfolgte zugleich die Einstellung des gesamten hämolytischen Systems, insbesondere auch die Kontrolle des Ambozeptors, der Erythrocyten und der Kochsalzlösung. Da das hämolytische System schließlich den Indikator der ganzen Reaktion darstellt, so darf auf seine Titrierung und Angabe nicht verzichtet werden; daß je nach der Wahl des hämolytischen Systems, insbesondere des Komplements, das Versuchsergebnis der Antigentitrierung sowohl wie der Komplementbindung recht verschieden ausfallen kann, läßt sich durch Parallelversuche leicht veranschaulichen. Für die angegebene Dosierung des hämolytischen Systems waren uns folgende Gesichtspunkte maßgebend: Der Ambozeptor muß so reichlich bemessen sein, daß eine eigenhemmende Wirkung von Antigen und Antikörper nicht zur Geltung kommen kann, andererseits ist ein Ambozeptorüberschuß zu vermeiden, da sonst auch ein von der Bindung freigebliebener Rest von Komplement mit dem reichlichen Ambozeptor zur Hämolyse ausreicht (also trotz eingetretener Komplementbindung). Für das Komplement gilt hinsichtlich der unteren Grenze Entsprechendes; hinsichtlich der oberen Grenze ist wichtig, daß ein Komplementüberschuß viel verhängnisvoller wirkt als ein Ambozeptorüberschuß, indem auch bei eingetretener Komplementbindung Komplement genug zur Hämolyse übrig bleibt. Auf diese Gefahr machen alle Untersucher, speziell auch Nicolle-Pozerski, aufmerksam. Ein Komplementüberschuß muß daher vermieden werden, am besten indem man das Komplement jedesmal vor dem Versuch titriert.

Aber auch bei genauer Einstellung des hämolytischen Systems durch die Komplementtitrierung erhält man nur Aufschluß über den hämolytischen Titer, nicht aber über die Deviabilität, d. h. die mehr oder weniger leichte Bindbarkeit des Komplements. In Uebereinstimmung mit anderen Autoren haben auch wir in einzelnen Fällen eine erhebliche Abweichung von der Norm hinsichtlich der Deviabilität des Komplements beobachtet bei gleichem hämolytischen Titer. Zur Erzielung gleichmäßiger Resultate ist es daher erforderlich, die Deviabilität des betreffenden Komplements jedesmal festzustellen einmal durch die Antigentitrierung vor dem Versuch, außerdem durch Mitprüfung eines oder mehrerer Standardsera, deren jedesmaliges Ergebnis einen Vergleich der einzelnen Versuche untereinander gestattet.

Es gestaltet sich demnach unsere Versuchsanordnung folgendermaßen:

Durch einen Vorversuch wird jedesmal die Titrierung des Komplements und damit die Einstellung des hämolytischen Systems vorgenommen.

Es folgt die Titrierung des Antigens hinsichtlich der alleinhemmenden und alleinlösenden Dosis und durch Tastversuche hinsichtlich der optimalen Dosis für spezifische Komplementbindung.

Der eigentliche Versuch setzt sich zusammen aus dem Hauptversuch und den Kontrollen.

a) Im Hauptversuch wurde jedes Serum, welches in fallenden Dosen von 0,3—0,01—0,001—0,0001 zur Prüfung kam, dem Antigen in konstanter (durch obige Vor- und Tastversuche ermittelter) Dosis, sowie Komplement in der zweifachen Grenzdosis hinzugefügt. Die Mischung kam nach Umschütteln auf 1 Stunde in den Brutschrank bei 37°. Hierauf wurden die $\frac{1}{4}$ Stunde vorher gemischten noch fehlenden Komponenten aufgefüllt, und zwar Hammelblutkörperchen in der Dosis 0,05 und hämolytischer Ambozeptor in der dreifachen Grenzdosis. Nach Umschütteln blieb der Versuch eine weitere Stunde bei 37° und $\frac{1}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur. Danach wurde das Resultat abgelesen und nach 12 Stunden Aufenthalt im Kühlen revidiert.

b) Die Kontrollen erstreckten sich auf:

1) Serum (alleinhemmende Wirkung in der einfachen und doppelten Dosis, sowie lösende Wirkung bei Mischen von Serum in der einfachen Dosis Antigen, Erythrocyten und Ambozeptor, also ohne Komplement).

2) Antigen (alleinhemmende und alleinlösende Wirkung in der einfachen und doppelten Dosis).

3) Hämolytisches System einschließlich Kochsalzlösung (Erythrocyten aufgefüllt mit Kochsalzlösung, dasselbe einmal mit Komplement allein, das andere Mal mit Ambozeptor allein und schließlich mit Komplement und Ambozeptor zusammen).

Außer diesen Kontrollen der einzelnen Reagentien bei der jedesmaligen Versuchsanordnung und der Kontrolle des Versuchs durch Standardsera wurden noch Kontrollen vorgenommen hinsichtlich der biologischen Spezifität des Reaktionsergebnisses, und zwar sowohl betreffs des Antigens wie betreffs des Reaktionskörpers. Dabei wurden möglichst analoge Verhältnisse im Hinblick auf Art, Herkunft und Zubereitung usw. berücksichtigt.

Von sonstigen Antigenen gelangten zur Prüfung: Diphtheriebodensatz und Diphtherietoxin, Tuberkulin 1:10 verd. Bern, polyvalenter Meningokokkenextrakt, alkoholischer Lues-Leberextrakt (wie er für die Wassermannsche Reaktion benutzt wird).

Von sonstigen Sera wurden untersucht: verschiedene Sera von normalen, ferner von kranken Pferden (Tetanus-, Druse-, Rotz-, Streptokokkenaffektion), sowie von immunisierten Pferden (Tetanus Höchst und Bern, Tuberkuloseserum Höchst, Diphtherie-, Streptokokken-, Pneumokokken-, Dysenterie-, Typhusserum Bern).

Im folgenden seien einige besonders übersichtliche und markante Tabellen unserer Versuche eingefügt. Es sei jedoch bemerkt, daß die einzelnen Sera und Antigene in vielen Tast- und Kontrollversuchen mit mannigfachen Kombinationen geprüft wurden, ohne daß die Versuche eine nennenswerte Differenz der Ergebnisse erkennen ließen.

Tabellen.
Zeichenerklärung:

Nach 12 Stunden:

	Bodensatz	Flüssigkeit
0 komplette Hämolyse	fehlt	schön rot und klar
L inkomplette Hemmung	eben erkennbar	rot gefärbt und trüb
# starke Hemmung	noch deutlich	farblos
+ deutliche Hemmung		mehr oder weniger gefärbt und trüb

Tabelle I.

Komplementtitrierung: Grenzwert 0,02, gewählt 0,04.

Antigentitrierung: (es fehlt jede alleinhemmende oder alleinlösende Wirkung)

Grenzwert ab gewählt

Tetanus-Bodensatz	0,5	0,325
Tetanus-Toxin	0,1	0,05

Kontrollen: richtig.

Serum	Tetanustoxin 0,325						Tetanusbodensatz 0,05					
	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,01	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,01
Normal-S. 1 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
do. 2 (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Neumokokken-S. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reptokokken-S. 1	0	0	0	0	0	0	L-0	L-0	0	0	0	0
Meningokokken-S. (1/2 Jahr alt) 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Komplementbindungstiter 0,005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phtherie-S. (frisch, ohne Phenol) 1	+	+	+	+-L	L	L-0	+	+	+	L	L-0	0
Tetanus-S. (ca. 1/2 Jahr alt) 1	+	+	+-L	0	0	0	++	+-L	0	0	0	0
do. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. 1 Rani 2X 15. II.	+	+	+-L	+-L	L-0	L-0	++	++	L	L	0	0
2 Rani 3X 28. I.	++	++	+-L	+-L	L-0	L-0	++	++	L	L	0	0
3 Rani 3X 12. II.	++	++	++	+	L	L-0	++	++	+	+-L	L-0	0
4 Rani 3X 20. VII.	++	++	++	++	+	+-L	++	++	++	++	+	L-0
5 Ranuncula 3X 26. II.	+	+-L	L	L-0	L-0	0	L-0	L-0	L-0	0	0	0
Toxin-S.	+	+-L	L	L-0	L-0	0	L-0	L-0	L-0	0	0	0
6 Ranuncula 3X 28. I.	+	L	L	L-0	L-0	0	L-0	L-0	0	0	0	0
7 Renate 3X n.e. 26. II.	++	++	++	+	+	L	++	++	++	++	+	0
8 Renate 3X 28. I.	++	++	++	+	+	L	++	++	++	++	+	0
9 Ricca 3X 15. II.	++	++	++	++	++	+-L	++	++	++	++	+-L	L-0
14 Roda 2X 27. V.	+	+	+	+	+	L	++	++	++	++	+-L	0
15 Roda 3X 5. VIII.	+	+	+	+	+	L	++	++	++	++	++	L-0
18 Ranuncula 1X 16. VIII.	+	+	+	+	L-0	L-0	++	++	++	++	+	L-0
Sporen-S.	+	+	+	+	L-0	L-0	++	++	++	++	+	L-0
21 Renate 1X 5. IX.	++	++	++	+	+	+	++	++	++	++	+	L-0
22 Ricca 2X 12. IX.	+-L	+-L	+-L	L	L-0	0	++	++	++	++	++	L-0
24 Renate 1X 21. IX.	++	++	++	++	++	L	++	++	++	++	+	L-0
23 Paula 1X 2. IX. Pneumokokken-S. und Tetanus-Rekonv.-S.	+	+	+	+	L-0	L-0	++	+	+	+-L	+-L	L-0
16 Kaninchen-Toxin-S.	+	+	+	+-L	L	L-0	L	L	L-0	L-0	L-0	0

Tabelle II.

Komplementtitrierung }
 Antigen titrierung } wie oben.
 Kontrollen: richtig.

Serum	Tetanustoxin 0,325						Tetanusbodensatz 0,05					
	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,01	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,01
Normal-S. 1 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
do. 2 (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diphtherie-S. 1 (frisch, ohne Karbol)	+	+	+	L	L	0	+	+	+L	L	L	0
Diphtherie-S. 2 (alt)	+	+	+	+L	L	L-0	+	+	+	L-0	L-0	0
Pneumokokken-S. 1	L-0	0	0	0	0	0	L-0	L-0	0	0	0	0
Meningokokken-S. 1 (s. o.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tuberkulose-S. (Höchst)	+	+	+	+	+	+L	+	+	+	+	+	+L
S. No. 5 Ranuncula	+	+	+L	0	0	0	L	L	L-0	0	0	0
8 Renate	+	+	+	+	+L	L-0	+	+	+	+	+	0
9 Ricca	+	+	+	+	+	+L	+	+	+	+	+L	L-0
10 Ricca 5X n. e. 28. I.	+	+	+	+	+	+L	+	+	+	+	+	L-0
11 Ricca	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+L	L-0
12 Ricca	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+L	L-0
13 Ricca	+	+	+	+	+	+L	+	+	+	+	L-0	L-0
14 Roda	+	+	+	L	0	0	+	+	L-0	0	0	0
15 Roda	+	+	+	+	L	0	+	+	+	+	+	0
18 Ranuncula	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	L-0
22 Ricca	+	+	+	+L	0	0	+	+	+	+	L	0
24 Renate	+	+	+	L	L-0	0	+	+	+	+	+	0
25 Renate	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	0
26 Ricca	+	+	+	+	+	L	+	+	+	+	+	+
27 Rani	+	+	+	+	+	+L	+	+	+	+	+	+L
23 Paula 1X	+	+	+	+	+	L	+	+	+L	L	0	0
17 Tetanus- Kontroll-S. (23. XI. 09)	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19 bezw. 20 Kaninch.- Toxin-S.	+	+	+L	0	0	0	+	+	+	+L	0	0

Tabelle III.

Komplementtitrierung: Grenzwert 0,01, gewählt 0,02.

Antigenitrierung: Tetanusbodensatz
Tetanustoxin
Grenzwert ab
0,1
0,5
gewählt
0,03
0,3.

Kontrollen: richtig.

Serum	Tetanustoxin 0,3								Tetanusbodensatz 0,03									
	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	0,005	0,001	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	0,005	0,001
Normal-S. 3 4 } (frisch) 5 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kranken-S. (Druse) 1 (Rotz) 1 (Streptok.) 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Typhus-S. (trocken) 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dysenterie-S. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pneumokokk.-S. 2 (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Meningokokk.-S. 2 (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tuberkulose-S. Höchst	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diphth.-S. 3 (ca. 1/4 J. alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetanus-S. Höchst 4-fach do. 6-fach	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetanus-S. 3 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
do. 4 (frisch, Sporen-S.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. No. 1 Rani 2×15. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxin-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15) Roda 3×5. VIII.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sporen-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25) Renate 3×4. X.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sporen-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 Kan.-Toxin-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28 Kan.-Sporen-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
do. nach 8 Tagen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 Kan.-Sporen-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nach 8 Tagen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nach 16 Tagen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cholera-S. (Kaninchen)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal-S. Kaninchen 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
do. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle IV.

Komplementtitrierung: Grenzwert 0,02—0,03, gewählt 0,045.

Antigentitrierung:

	Grenzwert ab	gewählt
Tetanus-Bodensatz	0,1	0,03
Tetanus-Toxin	1,0	0,325
Diphtherie-Bodensatz	0,004—0,006	0,001
Diphtherie-Toxin	0,01—0,02	0,005
Tuberkulin-Bern 1 : 10 verd.	0,1—0,2	0,075
Meningokokken-Extrakt	0,05—0,06	0,025

Kontrollen : richtig.

Serum	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0001
Normal-S. 1 (alt)												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetanus-Toxin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diphtherie-Bodensatz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diphtherie-Toxin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tuberkulin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Meningok.-Extrakt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tuberkulose-S. (Höchst)												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuberkulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-Extrakt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-S. 4 (ca. 1/2 Jahr alt)												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuberkulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-Extrakt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-S. 1 (ca. 1/2 Jahr alt)												
Komplementbind.-Titer 0,005												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuberkulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-Extrakt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-S. 5 (ca. 1/2 Jahr alt)												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuberkulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-Extrakt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S. No. 26. Sporen-S.												
Anti- gen : Tetanus-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetanus-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Bodensatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphtherie-Toxin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuberkulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meningok.-Extrakt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle V.

Komplementtitrierung: Grenzwert 0,02, gewählt 0,04

Antigentitrierung:

	Grenzwert ab	gewählt
Diphtherie-Bodensatz	0,004—0,006	0,002
Diphtherie-Toxin	0,01—0,02	0,0075

Kontrollen: richtig.

Serum	Diphtheriebodensatz 0,002									Diphtherietoxin 0,0075										
	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
Normal-S. 1 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7) (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8) (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9) (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pneumokokken-S. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dysenterie-S. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Meningokokken-S. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tuberkulose-S. Höchst	0	0	0	┐	+	+	+ ┐	┐ 0	0	0	0	0	0	+	+	+ ┐	┐	0	0	0
Diphtherie-S. 3 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	┐	┐	0	0	0	0	0	0	0	0
4 (alt)	+	+	+	┐	┐	┐	0	0	0	0	+	┐	0	0	0	0	0	0	0	0
5 (alt)	+	+	┐	0	0	0	0	0	0	0	+	┐	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetanus-S. 5 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 (alt)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 (frisch)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. No. 25. Sporen-S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Renate 3X 4. X.	+	+ ┐	┐	0	0	0	0	0	0	0	+	┐	┐	0	0	0	0	0	0	0

In diesem Versuch (Tabelle V) wurden anschließend an den vorigen (Tabelle IV) einige weitere Diphtherie- und Tetanussera, sowie zur Kontrolle Normal- und sonstige Immunsersa mit Diphtherie-Bodensatz und -Toxin als Antigen geprüft, und zwar letztere in etwas höherer Dosis (statt 0,001 bzw. 0,005 nunmehr 0,002 bzw. 0,0075); in einem weiteren Versuch wurde die Dosis noch weiter erhöht (auf 0,003 bzw. 0,01); in diesem Versuch ergaben sich ähnliche Resultate, wie sie Tabelle V veranschaulicht.

Versuche mit alkoholischem Lues-Fötalleber-Extrakt als Antigen entsprechend der Methodik der Wassermanschen Reaktion ergaben positiven Ausfall nur bei den meisten ganz frischen Normal-, Kranken- und Immunsersa, hier aber inkonstant und nicht weitgehend; dagegen negativen Ausfall bei den gelagerten Sera, speziell bei den in dieser Arbeit geprüften Tetanus-, Diphtherie- und Meningokokkensera. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Schatilloff-Isabolinsky (13).

Das Ergebnis unserer Versuche läßt sich in folgende Sätze zusammenfassen:

Normal-, Krankensera und die meisten Immunsera (z. B. Streptokokken-, Pneumokokken- und Dysenterieimmunsera) zeigen mit Tetanuskulturbodensatz und mit filtriertem Tetanustoxin, sowie mit anderen zur Kontrolle verwandten Antigenen (Diphtheriekulturbodensatz und -toxin, Tuberkulin, Meningokokkenextrakt) keinen Ausschlag mit der Komplementbindungsmethode.

Einige Immunsera, und zwar Diphtherie- und Tetanussera, sowie Tuberkuloseserum Höchst geben sowohl mit Tetanuskulturbodensatz und -toxin, wie mit den genannten Kontrollantigenen Komplementbindung. Die komplementbindende Wirkung dieser Sera ist aber nicht spezifisch. Denn sie findet sich bei Titrierung der Sera sowohl mit dem homologen wie auch mit den anderen Antigenen, ferner bei Verwendung desselben Antigens sowohl bei homologem wie bei heterologem Serum, und zwar in ungefähr gleichem Grade. Daß dieser Komplementbindungstiter nicht auf spezifische Stoffe zurückgeführt werden kann, zeigt die Tatsache, daß außer diesem unspezifischen Ausschlag das Tuberkuloseserum Höchst noch einen spezifischen gegenüber dem Tuberkulin zeigt; das Meningokokkenserum zeigt nur einen spezifischen Ausschlag gegenüber dem Meningokokkenextrakt, während der letztere mit Diphtherie- und Tetanusserum eine nicht spezifische Komplementbindung aufweist.

Ebensowenig wie die Reaktion für Tetanusheils sera spezifisch ist, ist sie konstant, d. h. nicht alle Tetanussera reagieren in gleicher Stärke. Wenn wir fragen, ob sich für den Komplementbindungswert der Tetanussera ein gesetzmäßiger Befund erheben läßt, so ist Folgendes zu bemerken: Der Titer der einzelnen Sera bei Verwendung von Tetanuskulturbodensatz einerseits, Tetanustoxin andererseits als Antigen ist annähernd der gleiche und beide Werte gehen bei den einzelnen Sera ziemlich parallel. Die mit filtriertem Toxin einerseits und die mit nichtfiltrierten Kulturen hergestellten Sera andererseits unterscheiden sich nicht. Ein Zusammenhang des Komplementbindungstiters mit dem Antitoxingehalt der Heils sera ist nicht vor-

handen; diese Beobachtung deckt sich mit der von Armand-DeLille. Auch ein Parallelismus der komplementbindenden Stoffe mit anderen antibakteriellen Immunkörpern des Tetanusserums kann nicht aufgestellt werden, da es, wie hier schon bemerkt sein möge, nicht gelang, solche nachzuweisen.

Wie haben wir uns nun das Auftreten komplementbindender Stoffe und die Differenzen ihres Gehaltes bei den einzelnen Sera zu erklären? Die Frage der Partialambozeptoren der Tetanussera für bestimmte Tetanusstämme im Sinne der Partialambozeptoren, z. B. bei Streptokokkenserum, scheidet hier von vornherein aus, da wir sowohl für die Immunisierung wie für die Komplementbindung ein und denselben Stamm verwandten. Ob ein Zusammenhang zwischen Komplementbindung und Anaphylaxie besteht und wie wir zutreffendenfalls ihn uns vorzustellen haben, ob in dem Sinne von Nicolle-Pozerski, muß derzeit noch offen gelassen und durch besondere darauf gerichtete Studien untersucht werden.

So viel können wir auf Grund unserer Ermittlungen bereits feststellen: Es handelt sich bei dem beschriebenen Phänomen um eine Gruppenreaktion, welche sich sowohl bei Tetanus-, als auch bei einigen oben genannten anderen Immunsera findet, und zwar bei solchen, die durch Einspritzung von Material lange gewachsener und toxinreicher Kulturen gewonnen sind: Tetanus-, Diphtherie- und Tuberkuloseserum. Diese Sera geben annähernd den gleichen Komplementbindungstiter bei Verwendung der verschiedenartigen Antigene: Bakterien, Extrakte, Toxine verschiedener Bakterienarten. Diese Tatsachen erlauben gewisse Schlüsse bezüglich der Beschaffenheit der hier in Frage kommenden Reaktionskörper, welche dies Komplementbindungsphänomen auslösen. Um spezifische Antikörper gegenüber der betreffenden Bakterienart kann es sich keinesfalls handeln, auch nicht um Antikörper gegen ein nur bestimmten Bakterien oder nur den Extraktstoffen oder nur dem löslichen Toxin derselben allein zukommendes Eiweiß. Vielmehr sind es Reaktionskörper gegen eine

allen Antigenen gemeinsame Substanz. Dabei braucht übrigens die Komplementbindung nicht durch einen spezifischen Immunitätsvorgang im Sinne der Antigen-Antikörperreaktion bedingt zu sein; sie läßt sich vielmehr auch durch die Wirkung einer kolloidalen Fällungsreaktion erklären. Welches aber auch der Mechanismus der Reaktion und die letztere auslösende Eigentümlichkeit der genannten Immunsera sein mag, von bemerkenswerter Gesetzmäßigkeit ist jedenfalls die Erscheinung, daß verschiedene, aber hinwiederum nur bestimmte Immunsera jenen Ausschlag geben, und zwar solche, welche durch Vorbehandlung mit Material lange gewachsener und toxinreicher Kulturen gewonnen sind. Es ist ohne weiteres verständlich, daß in diesen Fällen eine ganz besondere Alteration des immunisierten Organismus gesetzt wird. Ob, wann und wie anaphylaktische Vorgänge eine Rolle spielen, muß offen gelassen werden. Die Möglichkeit ist vorhanden und auf Grund der durch neuere Beobachtungen namentlich von Friedberger (14) hervorgehobenen nahen Beziehungen zwischen Immunität und Anaphylaxie wahrscheinlich. Daß auch bei anaphylaktischen Vorgängen das bei Tetanus-, Diphtherie- und Tuberkuloseserum benutzte Immunisierungsmaterial eine besondere, aber im Sinne des Infektionserregers nicht verschiedene, also unspezifische Wirkung entfalten kann, ist verständlich. Das Vorhandensein spezifischer Toxinolysine im Sinne Nicolle-Pozerskis konnten wir bei unseren Tetanusimmunsera nicht feststellen.

Zusammenfassung.

1) In zahlreichen von uns geprüften Tetanusheilsera verschiedenster Provenienz und nach verschiedenen Methoden dargestellt, konnten komplementbindende Stoffe spezifischer Art nicht nachgewiesen werden.

2) Die Tetanus- sowie Diphtherie- und das Tuberkuloseserum Höchst geben mit Tetanuskulturbodensatz und -toxin, Diphtheriekulturbodensatz und -toxin, Tuberkulin und Meningokokkenextrakt Komplementbindung unspezifischer Art von annähernd gleicher Stärke.

3) Die mit filtrierten Kulturen (Toxinen) einerseits, mit unfiltrierten Kulturen andererseits hergestellten Sera unterscheiden sich bezüglich ihres Komplementbindungstiter nicht voneinander.

Literatur.

- Bruckner, Die Agglutination der Tetanusbacillen. Inaug.-Diss. Bern, 1901.
Kreuter, Arch. f. klin. Chir., Bd. 90.
Sawamura, Arbeiten aus dem Inst. zur Erf. der Infektionskrankh. in Bern. Jena (G. Fischer) 1909.
Sachs-Altmann, Die Komplementbindung. In Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan., Erg.-Bd. II, 1907.
Citron, Die Technik der Komplementbindungsmethode. In Kraus-Levaditis Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immunitätsf., 1909.
Meier, Die Komplementbindung. In Weichardts Jahresbericht über die Ergebnisse d. Immunitätsf., 1909.
Ballner und Reibmayr, Arch. f. Hyg., Bd. 64.
Kolle-Wassermann, D. med. W., 1906, No. 16.
Neufeld, Med. Kl., 1908, No. 30.
Ruppel und Rickmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, H. 2/3.
Maragliano, Pathologica, No. 8, ref. Weichardt 1909.
Kreuter, Arch. f. klin. Chir., Bd. 90.
Nicolle-Pozerski, Annales de l'Institut Pasteur, Bd. 22, No. 1.
Armand-Delille, Semaine méd., 1908, No. 47.
Poujol-Delanoe, Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 66, No. 14.
Schatilloff-Isabolinsky, Z. f. Immun., Bd. 1, H. 2.
Friedberger, M. med. W., 1910, No. 50 u. 51.

Ferner die zusammenfassenden Abhandlungen über Tetanusheilsera:
Eisler-Pribram, Tetanusantitoxin. In Kraus-Levaditis Handb. d. Tech. u. Meth. d. Immunitätsf., 1908.
v. Lingelsheim, Tetanus. In Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen, 1903/04.
Blumenthal, Die Serumtherapie des Tetanus. In Wolff-Eisners Handb. d. Serumtherapie, 1910.
Otto, Die staatliche Prüfung der Heilsera. Arbeiten aus d. Kgl. Inst. f. exp. Therapie, Frankfurt a. M., 1906.

Nachdruck verboten.

[Aus den experimentellen Laboratorien der Königl. Universitäts-Augenkliniken zu Marburg a. L. (Direktor: Prof. Dr. Bach) und der Königl. Charité zu Berlin (Direktor: Geheimrat Prof. Greeff).]

Tuberkulose-Studien.

(Beitrag zur experimentellen Augentuberkulose.)

Von Dr. **Franz F. Krusius**,

Privatdozent an der Universität Marburg a. L.,

z. Z. Assistent der Univ.-Augenklinik in der Königl. Charité zu Berlin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. März 1911.)

Die nachstehend berichteten Untersuchungen sind Teilergebnisse längerfristig angelegter Tuberkulose-Studien, deren gelegentlich fortlaufende vorläufige Mitteilung ihre Begründung darin haben soll, daß der anregende Wert sich ergebender neuer Gesichtspunkte bei dem raschen Fortschreiten der experimentellen Therapie auch schon in dieser gekürzten Form in für und wider fruchtbar wirkt, nicht zum Schaden der späteren kritisch überwiegenden und eingehend protokollierten Gesamtdarstellung.

Wertvolle Anregungen in Methodik und experimentellen Gesichtspunkten verdanke ich Prof. P. H. Römer in Marburg, aus dessen Abteilung des Königl. Institutes für experimentelle Therapie (Exz. v. Behring) mir auch Tuberkelbacillenkulturen zur Verfügung gestellt wurden, deren konstante Virulenz die fortlaufenden Tuberkulosearbeiten eben diesen Institutes garantierten.

Verwandt wurden für nachstehende Fragen Kaninchen, deren primäre Tuberkulosefreiheit mittels der Intrakutanreaktion (intrakutan 0,1 einer Lösung Alttuberkulin 20 auf 100 physiologische Kochsalzlösung = 0,02 Alttuberkulinum purum) festgestellt wurde. Da sich fast stets zeigte, daß der okulare Schwellwert tuberkulöser Infektion für Albino-Kaninchen tiefer lag wie für andere gleicher Zucht, so wurde für Vergleichsreihen darauf Rücksicht genommen. Im Vordergrund des

speziellen Interesses stand die Frage der okularen Tuberkulose: Es wurde quantitativ gearbeitet unter peinlichster Innehaltung der Emulsionsierungsmethodik R ö m e r s (vergl. diesbezüglich: Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 17, 1910, Heft 3). Injektion mittels einer speziell gearbeiteten feinsten Nadelkanüle und Mikrorekordspritze.

Zeitliche und örtliche Beziehungen zwischen okulärer Tuberkuloseinfektion, klinischer Erkrankung und biologischer Umstimmung des Organismus im Sinne der spezifischen Tuberkulinüberempfindlichkeit: Es wurden angestellt Impfungen in die vordere Augenkammer (0,0005 und 0,000005 mg Tuberkelbacillen), in den Glaskörper und in die Linse. Selbst bei 0,000005 mg Tuberkelbacillen (Tbc. bovin.) entwickelte sich in der Vorderkammer oder im Glaskörper eine, wenn auch chronische, so doch progrediente okulare Tuberkulose. Wichtig ist das einstimmige Ergebnis, daß in allen Fällen die ersten klinisch eindeutigen okularen Tuberkulosezeichen beobachtet wurden zu einer Zeit, wo der Gesamtorganismus auf die intrakutane Tuberkulinprobe noch völlig biologisch negativ antwortete, obwohl die Frist seit der Infektion die bei Anaphylaxie und Präzipitationsversuchen zur biologischen Umstimmung erforderliche Mindestfrist (9 Tage) übertraf (> 12 Tage). Es wirft dies ein Licht auf Beobachtungen der menschlichen Tuberkulosepathologie, die ich gerade augenärztlich wiederholt erheben konnte: daß bei einer (anscheinend okular isolierten) klinisch als Tuberkulose anzusprechenden Erkrankung des Auges (Kammerwinkeltuberkulose) in frischen Fällen gelegentlich auch mit den feinsten kutanen und intrakutanen Tuberkulinproben noch keine spezifische Ueberempfindlichkeit des Gesamtorganismus nachweisbar war, bis erst später nach eingeleiteter Tuberkulinkur die an den betreffenden okularen Prozessen auftretenden Herdreaktionen die Diagnose „Tuberkulose“ auch biologisch sicherstellten.

Die isolierten Tuberkuloseinfektionen in die Linse ergaben das überraschende Resultat, daß auch die 20-fache Menge (0,0001 mg) hier klinisch relativ reaktionslos lagert derjenigen Menge (0,000005 mg), die in Glaskörper und

Vorderkammer deutliche und schwere Tuberkulose erzeugt; und zwar bleiben diese Linsen klar bis auf die Stichkanaltrübungen ganz wie die mit Kochsalzlösungen infizierten Kontrollinsen bis zu der doppelten Inkubationszeit der 20-fach kleineren Menge in Glaskörper und Vorderkammer. Daß es sich hierbei nicht um eine tuberkulobakterizide Wirkung der Linsenmasse, ja vielleicht nicht einmal um eine wachstumshemmende biologische Wirkung derselben handelt, ergab die interessante Tatsache, daß diese primär mit 0,0001 mg infizierten Linsen, wenn 30 Tage nach der Infektion steril herausgenommen und entsprechend auf frische Tiere weiter verimpft, noch mit $\frac{1}{50}$ ihres Bestandes (= 0,000002 mg Tuberkelbacillen orig.) in der Vorderkammer nach Inkubationszeit von < 3 Wochen eine deutliche, wenn auch ganz schwache Tuberkulose entstehen ließen. Ja, daß die intravenöse Weiterverimpfung von $\frac{40}{50}$ ihres Bestandes (= 0,00008 mg Tuberkelbacillen orig.) eine schwere chronische disseminierte Tuberkulose entstehen ließ, die das betreffende Tier nach 3 Monaten zum Tode führte mit miliariformer Aussaat in Lunge, Milz, Niere, Leber und Darm. Es muß also gefolgert werden, daß diese relative Resistenz der Linse ihren Grund mehr in der anatomischen Struktur und mechanischen Bedingungen wie im engeren Sinne in biologischen Faktoren hat. Wichtig ist hier der Hinweis, daß auch in zur Einschmelzung führender Tuberkulose des Auges die Linse relativ lange unangegriffen bleibt.

Quantitative okulare Tuberkulose-Reinfektionsversuche ließen sehr anschaulich die seit dem klassischen Experimente Kochs bekannte und jüngst in den Römerschen Tuberkulose-Studien so schön bewiesene Tatsache veranschaulichen, daß eine (isolierte!?) aktive Tuberkulose selbst *alis loco* einen relativen Schutz einer quantitativ abgestuften Reinfektion gegenüber erzeugt: Es wurden primär tuberkulosefreie Kaninchen okular einseitig mit 0,0005 oder 0,000005 mg Tuberkelbacillen in die vordere Kammer oder den Glaskörper erstinfiziert und 37 Tage nach der Erstinfektion, nach dem Eintritt okular isolierter klinischer Tuberkulose und nach biologischer spezifischer Umstimmung des Gesamtorganismus

mus (bewiesen durch die positiv gewordene intrakutane Tuberkulinreaktion) am anderen Auge reinfiziert mit 0,000005 mg Tuberkelbacillen. Es konnte dabei eindeutig gezeigt werden, daß tuberkulosefreie Kontrolltiere schon nach 11 Tagen die ersten klinischen Erscheinungen und nach 27 Tagen eine schwerste Tuberkulose des vorderen Augenabschnittes aufwiesen, während die tuberkulösen Tiere am reinfizierten Auge noch bis zu 36 Tagen auch bei Zeißscher Lupenbetrachtung völlig frei von klinisch nachweisbarer Tuberkulose waren und erst nach ungefähr 60 Tagen (anatomischer Befund!) vereinzelte deutliche tuberkulöse Herde in Iris und Kammerwinkel erkennen ließen. Es bestand mithin durch die isolierte okuläre Tuberkulose des einen Auges für das intakte andere Auge eine, wenn auch nicht absolute, so doch beträchtliche relative Tuberkuloseimmunität, kenntlich aus den bei erheblich verlängerter Inkubationszeit nur abgeschwächt auftretenden klinischen Herderscheinungen. Ein Heruntergehen mit der Reinfektionsdosis würde leicht im besonderen Falle die relative Immunität zu einer scheinbar absoluten gemacht haben.

Im Hinblick auf Forderungen der klinisch-agenärztlichen Tuberkulosedagnostik ist die Tatsache bemerkenswert, daß beim Kaninchen und Meerschweinchen klinisch fragliche kleinste Irisknötchen durch eine okular isolierte Herdreaktion leicht biologisch als tuberkulös nachgewiesen werden können durch eine quantitativ abgestufte, subkonjunktivale Tuberkulininjektion. Es tritt dann nach 6—12 Stunden um die Knötchen eine bei den optischen Verhältnissen des Auges am Zeißschen Lupenmikroskope in vivo leicht kenntliche Gefäßinjektion auf, die sich bei geeigneter quantitativer Dosierung ohne Gefahr der Aussaat in ungefährlichen Grenzen erhalten läßt.

Die sowohl in den Römerschen Versuchen wie bei meinen Tieren sich selbst nach „Schwellwert“-Infektionen konstant entwickelnde intrakutane spezifische Tuberkulinüberempfindlichkeit der ursprünglich tuberkulosefreien und unempfindlichen Tiere ist von Wert für eine biologische Schnell diagnose tuberkuloseverdächtigen Ma-

teriales: Entwickelt sich nach der nur seltener absolut steril und ohne Mischinfektion ausführbaren okularen oder sonstigen Ueberimpfung verdächtigen Materiales selbst bei atypischen klinischen Erscheinungen bei den vorher tuberkulosefreien Tieren eine spezifische intrakutane Tuberkulinüberempfindlichkeit (nach > 3 Wochen), so ist mit allergrößter Wahrscheinlichkeit der Schluß zulässig, daß in dem überimpften Materiale wenn auch Spuren virulenter Tuberkelbacillen enthalten waren. Es wäre nur die eine verhütbare Fehlerquelle denkbar, daß die Tiere während dieser 3 Wochen sich spontan anderweitig tuberkulös infiziert hätten. Es steht dann immer noch der sehr viel mehr Zeit, Mühe und Tiermaterial verlangende, aber den endgültigen Beweis bringende Weg offen, aus der Impferkrankung die Tuberkelbacillen-Reinkultur zu züchten.

Zusammenfassung.

- 1) Bei quantitativ gesetzter isolierter intraokularer Tuberkuloseinfektion kann die Inkubationszeit der örtlichen klinischen Erkrankung kürzer sein als die bis zur biologischen Umstimmung des Gesamtorganismus im Sinne der spezifischen Tuberkulinüberempfindlichkeit nötige Frist.
- 2) Isolierte Tuberkuloseinfektion der Linse läßt eine wohl nur mechanisch-anatomisch bedingte relative Resistenz derselben dieser Infektion gegenüber feststellen.
- 3) Nach isolierter Tuberkulose-Erstinfektion und isolierter klinischer Erkrankung des einen Auges läßt sich für das andere Auge das Bestehen einer relativen Tuberkuloseimmunität beweisen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Erklärung der Präzipitinreaktion.

Von **D. A. Welsh** und **H. G. Chapman**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. März 1911.)

Die Summe der Immunitätsvorgänge ist außerordentlich groß; aktiv immunisieren heißt daher nur je nach dem auslösenden Moment Phänomene hervorrufen, von welchen jedes nur ein Bruchteil der gesamten Immunitätsfähigkeiten eines lebenden Organismus gegen die in sich eingeführten Fremdkörper darstellt. Eines der so ausgelösten spezifischen Immunitätsphänomene ist das Erwerben einer Präzipitinreaktion beim Immunserum, d. h., wird ein Tier mehrmals mit fremdartigem Tierprotein vorbehandelt, so erwirbt das Serum des so vorbehandelten Tieres die Fähigkeit, *in vitro* in Anwesenheit des fremden Proteins einen Niederschlag zu bilden. So einfach wie diese Immunitätsreaktion bei erster Betrachtung aussieht, einfacher als kaum eine andere, so ist doch ihre endgültige Erklärung bei genauerer Nachforschung eine ebenso schwierige wie bei allen anderen Immunitätserscheinungen. Ohne auf die Bedeutung einzugehen, welche die Eigenschaften eines solchen Immunserums *in vivo* auf den gesamten Stoffwechsel haben, oder die Beziehung der Präzipitinreaktion zu den anderen Immunitätsvorgängen (1) zu erörtern, werden wir uns direkt der Reaktion *in vitro* und der Beziehung zwischen Bestandteilen des Immunserums und Antigens zuwenden.

Zu Anfang unserer Versuche betrachteten wir die Reaktion als eine, die zwischen bestimmten Mengen der reagierenden Substanzen stattfinden muß. Bei der weiteren Ausführung unserer Untersuchungen kam es uns darauf an, die quantitativen Verhältnisse von Antigen und Immunserum festzustellen, und als erstes Ziel das genaue Gewicht der entstehenden Präzipitate zu bestimmen; die so erhaltenen Gewichtsverhältnisse gestatteten uns Schlüsse zu ziehen, welche eine bedeutende, sogar eine überraschende Erweiterung unserer genauen Kenntnis des Mechanismus der Präzipitinreaktion in sich schlossen.

Durch die quantitativen Beziehungen zwischen Antigen und Immunserum und das Wiegen der durch ihre Zusammenwirkung entstehenden Präzipitate offenbart sich die unerwartete Eigenart des gesamten Reaktionsvorganges. Falls unsere Schlußfolgerung berechtigt ist, entsteht das Präzipitat zum größten Teil aus Bestandteilen des Immunserums, und zwar aus denjenigen Bestandteilen, welchen das Immunserum seine spezifischen präzipitablen Eigenschaften verdankt. Diese Schlußfolgerung wird nicht beeinträchtigt durch die Wahrscheinlichkeit, daß auch nicht spezifische Moleküle (z. B. Komplement) mit dem spezifischen Immunkörper (Präzipitin) mit niedrigerissen werden und deswegen auch im Präzipitat vorhanden sind. Das Antigen selbst aber ist wahrscheinlich wenig — wenn überhaupt — im Präzipitat vorhanden. Dasselbe besteht hauptsächlich aus Antikörpern (Präzipitin), und zwar in wägbaren Mengen. Faßbare Antikörper waren bis jetzt unbekannt. Und erst hier, in dem aus einem präzipitablen Immunserum entstehenden Präzipitat, scheint es uns geglückt, einen solchen wägbaren Antikörper dargestellt zu haben.

Der Vorgang der Präzipitation.

a) Beziehung von Antiserum zum Präzipitat.

Die ursprüngliche Erklärung für die Präzipitinreaktion war, daß das Antiserum „Kaogulin“ oder „Präzipitin“ enthielt, welches die Fähigkeit hatte, das Antigen (homologes Protein) auszuflocken. „Très généralement, en effet, le sérum d'un animal d'espèce A, injecté de sérum d'espèce B, précipité ce sérum B“ (2). Es wurde allerdings zugegeben, daß ein Teil des Niederschlags von dem Antiserum herrühren könnte (3, 4, 5, 6). Ebenso meinte man, daß das Präzipitin sich in bestimmten Mengenverhältnissen mit dem Antigen verbände, um das Präzipitat zu bilden (7). In jedem Falle aber wurde die Annahme gemacht, daß die Hauptquelle des Niederschlags das Antigen (homologes Protein) wäre, welches deshalb als die präzipitable Substanz“ bezeichnet wurde. Man verglich die Präzipitinreaktion mit der Bakterienagglutination und meinte, daß in analoger Weise die Präzipitine Proteinmoleküle aus den Antigenlösungen agglutinierten und fällten (8, 9).

Schon zu Anfang unserer Experimente mit Präzipitinen fanden wir, daß diese Erklärung mit den erhaltenen Versuchsergebnissen nicht im Einklang stand. Seit langem war bekannt, daß die Präzipitinreaktion außerordentlich empfindlich ist, so daß man ein Präzipitat schon beobachten kann bei aller kleinsten Spuren von gelöstem Antigen (homologem Protein). Es war uns gelungen noch weiter zu gehen und zu zeigen, daß deutliche Präzipitate erhalten werden können in einer Mischung von Antiserum und Antigen, in welcher der Gesamtgehalt an Protein in der Antigenlösung zu klein ist, um durch irgendwelche rein chemische Fällungsmittel angezeigt werden zu können (11, 12). Dies beweist klar, daß das sichtbare Präzipitat nicht von der unsichtbaren Menge Antigen herrühren kann, es muß also aus dem Antiserum kommen.

Im weiteren Verlauf unserer Versuche erhielten wir entsprechende Resultate mit Mengen von Antigen und Präzipitat, welche groß genug waren, um gewogen werden zu können (13). Danach ergaben 1 mg Hühnereiweiß (Antigen) bei Einwirkung auf 52 ccm von für Hühnereiweiß spezifischem Antiserum eine Fällungsmenge von 25,9 mg, und dann war noch gelöstes Antigen in der überstehenden klaren Schicht enthalten. Auch hier ist es doch kaum denkbar, daß eine ausgefällte Menge von 25 mg Gewicht aus nur 1 mg Antigen stammen kann, besonders wenn dieses noch in der überstehenden Flüssigkeit nachweisbar ist. Die „präzipitable Substanz“ muß daher zum allergrößten Teil aus dem Antiserum stammen.

Wägung der erhaltenen Präzipitate zeigte (14, 15), daß das Gewicht des Präzipitats im direkten Verhältnis zu der Antiserummenge steht und ganz unabhängig von der Antigenmenge ist; es muß dabei allerdings genügend Antigen vorhanden sein, um die gesamte in der benutzten Antiserummenge enthaltene „präzipitable Substanz“ niederzuschlagen. Arbeitet man daher mit einem Ueberschuß von Antigen und läßt z. B. Antiserum in Mengen von 1, 2, 3 ccm auf 100 mg Antigen in einem Volumen von 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung einwirken, so wird das Gewicht der getrockneten Präzipitate ein Verhältnis von 1, 2, 3 etc. zeigen, und die überstehende Flüssigkeit wird nach Trennung von dem Sediment und nach weiterem Hinzusetzen von Antigen keinen

Niederschlag mehr ergeben. Unter derselben Vorbedingung werden die Gewichte der Präzipitate dieselben sein und die gleiche Abhängigkeit von den Antiserummengen zeigen, gleichgültig, ob die Antigenmenge erhöht wird auf 200, 300, 400 oder 500 mg oder vermindert wird auf 50 mg. Diese gravimetrischen Versuche beweisen, worauf unsere früheren Experimente schon hinwiesen (12, 16), nämlich, daß eine bestimmte Menge von Antiserum eine bestimmte Menge „präzipitabler Substanz“ enthält, welche präzipitiert werden kann durch eine bestimmte Menge (oder Konzentration) von Antigen. Wir drücken dies kurz so aus, daß wir sagen: jedes Antiserum hat einen bestimmten „präzipitablen Gehalt“ („praecipitable content“). Wir haben schon früher erklärt, daß der „präzipitable Gehalt“ eines Serums nicht unbedingt gleichbedeutend ist mit dem Gehalt an „Präzipitin“, da Präzipitin nicht-spezifische Moleküle aus dem Antiserum mit hinunterreißen kann.

In Tabelle I geben wir einige bei unseren Versuchen erhaltene Zahlen, welche am besten das eben Gesagte illustrieren. Die Versuche wurden aseptisch vorgenommen, die Zeit der Einwirkung schwankte zwischen 48 und 72 Stunden. Nach Ablauf dieses Zeitraumes wurden die Niederschläge sorgfältig abgetrennt, gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Art des Proteins, welche benutzt wurde zur Immunisierung eines Kaninchens und zur Einwirkung auf das entsprechende Antiserum ist zu finden in der Rubrik „Antigen und Antiserum“.

Tabelle I.

No.	Antigen und Antiserum	Volumen des Antiserums	Gewicht d. getrockneten Proteins (Antigen)	Volumen der Kochsalzlösung	Gewicht des Niederschlags	Gewicht d. Niederschlags per ccm Antiserum
1	Pferdeserum 57	2,5 ccm	100 mg	50 ccm	3,7 mg	1,5 mg
2	Pferdeserum 57	2,5 "	100 "	50 "	3,5 "	1,4 "
3	Hühnereiweiß 59	2,0 "	134 "	50 "	8,6 "	4,3 "
4	Hühnereiweiß 59	3,0 "	134 "	50 "	12,5 "	4,2 "
5	Hühnereiweiß 59	4,0 "	134 "	50 "	16,7 "	4,2 "
6	Pferdeserum 53	2,5 "	50 "	50 "	2,0 "	0,8 "
7	Pferdeserum 53	5,0 "	200 "	50 "	4,0 "	0,8 "
8	Pferdeserum 56	5,0 "	100 "	50 "	10,4 "	2,1 "
9	Pferdeserum 56	10,0 "	100 "	50 "	20,0 "	2,0 "

Diese Beobachtungen zeigen zugleich, in welch weiten Grenzen der „präzipitable Gehalt“ innerhalb der verschiedenen Antisera schwankt; bei den hier zur Untersuchung gekommenen zwischen 0,8 und 4,2 mg pro Kubikzentimeter des Antiserums.

Schon Adami (17) und Arrhenius (18) waren zu der Annahme gekommen, daß der Niederschlag sich zum größten Teil aus Bestandteilen des Antiserums zusammensetzte, und Arrhenius sagt mit Bezug auf das Einwirken kleiner Mengen Schafserum auf dessen Antiserum: „Der Hauptteil des Präzipitats stammt danach wahrscheinlich aus dem Präzipitin.“

b) Vollständige und teilweise Präzipitation.

Die Schwierigkeit, scharf zwischen vollständiger und teilweiser Präzipitation zu unterscheiden, ist wohl hauptsächlich verantwortlich zu machen für die abweichenden Ansichten anderer Beobachter. Es ist eine bekannte Erfahrung, daß die Einwirkung von steigenden Mengen von Antigen auf eine konstante Menge Antiserum steigende Mengen von Präzipitat ergeben und daraus wird allgemein gefolgert, daß aus jedem Zunahmeverolumen von Antigen ein entsprechendes Zunahmeverolumen von Niederschlag erzielt wird. Unsere Beobachtungen haben uns jedoch gelehrt, daß dies nur bis zu einer gewissen Grenze der Fall ist, welche sich bei jedem Antiserum ändert. Nachdem einmal eine gewisse Menge (und Konzentration) erreicht ist, ist von einer gegebenen Menge Antiserum kein Niederschlag mehr zu erhalten, einerlei wieviel mehr Antigen noch hinzugesetzt wird. Wird denken dies so, daß es möglich ist, durch eine genügende Menge Antigen den ganzen „präzipitablen Gehalt“ eines Antiserums niederzuschlagen, und wir nennen dies vollständige Präzipitation.

Die verschiedenen Antisera schwanken allerdings in weiten Grenzen mit Bezug auf die Menge und Konzentrationen von Antigen, welche nötig ist, um vollständige Präzipitation aus konstanten Antiserummengen zu erhalten. Diese wollten wir ausdrücken, indem wir sagten, daß Antisera sich durch verschiedene Grenzen der vollständigen Präzipitation unterscheiden. Genügt das Antigen nicht, um das Maximum an Präzipitat aus dem Antiserum zu liefern, so ist die Einwirkung nur eine teilweise, und weiteres Hinzusetzen von Antigen wird fort-

gesetzt weitere Niederschläge erzeugen, bis die „präzipitable Substanz“ vollständig niedergeworfen ist. Viele Präzipitin-Antisera sind charakterisiert durch ihre hohen Grenzen vollständiger Präzipitation und sind deshalb geneigt, derartige teilweise Einwirkung zu zeigen.

Unsere früheren Experimente, welche auf Schätzung der Volumina kleinster Niederschlagsmengen beruhten, finden Bestätigung durch unsere späteren Ergebnisse, welche wir durch Wägung größerer Mengen von Präzipitat erhielten. Zwei Experimente, welche ein gutes Bild unserer Versuche geben, finden sich in Tabelle II und III. In jedem Versuch ließen wir konstante Mengen von Antiserum (von einem mit Hühner-eiweiß immunisierten Kaninchen) auf steigende Mengen Antigen (getrocknetes Hühnereiweiß) einwirken; die nach 48 Stunden erhaltenen Niederschläge wurden gewaschen, getrocknet und gewogen. Zu dem Versuche wurde ein anderes Hühnereiweiß als Antiserum benutzt.

Im ersten Versuch (Tabelle II) vermehrte sich die Niederschlagsmenge fortgesetzt bei jeder Vergrößerung der Antigenmenge, und bei einem Zusatz von fast 29 mg Antigen war noch nicht sämtliche präzipitable Substanz aus 3 ccm Antiserum ausgefällt. Ein solches Antiserum ist charakterisiert durch seinen hohen „präzipitablen Gehalt“ (zum wenigsten 2,2 mg pro Kubikzentimeter Antiserum) und seine hohe Grenze vollständiger Präzipitation. Ein solches Antiserum führt, wie man sieht, zu Resultaten, welche geeignet sind, die allgemein angenommene Anschauung über die Präzipitinreaktion zu unterstützen, denn besonders in den ersten Versuchsreihen (No. 1

Tabelle II.

No.	Volumen des Antiserums	Gewicht des Antigens	Volumen der Kochsalz-lösung	Gewicht des Niederschlages	Gewicht des Niederschlag. pro ccm Antiserum
1	3 ccm	1,44 mg	50 ccm	1,0 mg	0,33 mg
2	3 "	3,6 "	50 "	1,5 "	0,5 "
3	3 "	7,2 "	50 "	2,0 "	0,67 "
4	3 "	14,4 "	50 "	2,7 "	0,9 "
5	3 "	28,8 "	50 "	4,2 "	1,4 "
6	3 "	144,0 "	50 "	6,5 "	2,2 "

bis 5), solange die Einwirkung noch keine vollständige ist, steigt das Gewicht des Niederschlags entsprechend der Zunahme im Gewicht des Antigens.

Tabelle III.

No.	Volumen des Antiserums	Gewicht des Antigens	Volumen der Kochsalzlösung	Gewicht des Niederschlages	Gewicht des Niederschlag. pro ccm Antiserum
1	2 ccm	14,4 mg	50 ccm	3,2 mg	0,6 mg
2	2 "	36,0 "	50 "	3,5 "	1,75 "
3	2 "	144,0 "	50 "	3,4 "	1,7 "
4	2 "	432,0 "	50 "	3,4 "	1,7 "

In dem zweiten Versuch (Tabelle III) sind 14 mg Antigen ausreichend, um die präzipitable Substanz aus 2 ccm Antiserum vollständig niederzuschlagen; durch weiteres Hinzufügen von Antigen, selbst in dreifacher Menge, wurde das Gewicht des Präzipitats weder vermehrt noch vermindert. Dieses Antiserum ist charakterisiert durch einen nur mäßigen „präzipitablen Gehalt“ (ca. 1,7 mg pro Kubikzentimeter Antiserum) und eine verhältnismäßig niedere Grenze der vollständigen Präzipitation. Sobald die Grenze der vollständigen Präzipitation erreicht ist, ist das Gewicht des Niederschlags unabhängig von dem Gewicht des Antigens.

Obige Beobachtungen zeigen, daß sich nur bei teilweiser Präzipitation das Gewicht des Niederschlags mit dem Gewicht des Antigens ändert (siehe Tabelle II), hat das Präzipitat bei vollständiger Präzipitation ein Maximalgewicht erreicht, so verändert sich dieses durch weitere Zugaben von Antigen nicht mehr (siehe Tabelle III).

c) Beziehungen des Antigens zum Präzipitat.

Behandelt man eine gegebene Menge Antigen, selbst die aller kleinste, nacheinander mit frischen Mengen von Antiserum, so wird das Antigen nicht vollständig aus der überstehenden Flüssigkeit entfernt. In vielen unserer Versuche mit kleinsten Mengen Antigen und verhältnismäßig großen Mengen Antiserum konnten wir nicht feststellen, daß die Antigenmenge merklich verringert war. Wir fanden, daß die überstehende Flüssigkeit die Fähigkeit hatte, nach frischem Zusatz von

Antiserum immer von neuem ähnliche Niederschläge zu bilden und daß mit zunehmender Konzentration des Antiserums das Präzipitat ebenfalls eine Zunahme zeigte (12).

Beim Einwirken wägbarer Antigenmengen auf Antiserum konnten wir die im Niederschlag vorhandenen Antigenmengen nicht direkt bestimmen; die folgenden Tatsachen zeigen jedoch, daß diese Menge eine kleine sein muß, verglichen mit der aus dem Antiserum erhaltenen. 1) Eine bestimmte Menge Antiserum hat einen bestimmten „präzipitablen Gehalt“, und das Gewicht des Niederschlags steht im Verhältnis zu der angewendeten Menge des Antiserums (vide supra). 2) Das Maximalgewicht des Präzipitats aus einer gegebenen Antiserummenge ist das gleiche, einerlei ob es ausgelöst wurde durch einen einmaligen Zusatz einer bestimmten Antigenmenge oder durch aufeinanderfolgende Zusätze kleinerer Mengen (15). 3) Bei vollständiger Präzipitation ist das Gewicht des Niederschlags unabhängig von dem Gewicht des Antigens (vide supra). 4) Bei teilweiser Präzipitation kann das Gewicht des Präzipitats ein viele Male größeres sein als das Gewicht des Antigens, wenn das letztere nur in kleiner Menge vorhanden ist, z. B. 1 mg oder 5 mg (13, 15). Diese Beobachtungen stehen nicht unbedingt im Widerspruch mit der Annahme, daß Antigen und Antiserum sich verbinden, um den Niederschlag zu bilden, sie zeigen aber, daß es unrichtig ist, zu sagen, daß das Präzipitin des Antiserums das Antigen präzipitiert; sie beweisen, mit anderen Worten, daß das Antigen nicht die eigentliche „präzipitable Substanz“ ist.

Arrhenius und Hamburger glaubten Beweise dafür zu haben, daß der Vorgang bei der Präzipitinreaktion die Einwirkung äquivalenter Mengen von Antigen und Präzipitin aufeinander darstellt. Ihre Versuche scheinen den unseren trotzdem nicht zu widersprechen, sie behandeln vielmehr die Frage von einem anderen Gesichtspunkt aus nach Beobachtungen unter anderen Versuchsbedingungen. Arrhenius (22) nimmt an, daß das bei kleinen Antigenmengen gebildete Sediment zur Hauptsache aus Präzipitin bestehen muß, und aus seiner Gleichung des Equilibriums

$$\frac{A-P}{V} \times \frac{B-P}{V} = K$$

ist zu entnehmen, daß in den von ihm erhaltenen bedeutenden Niederschlägen das Mengenverhältnis der Teile von Antigen und Antiserum das gleiche sein muß wie bei seinen geringen Niederschlägen. Das will sagen, daß ein geringer Niederschlag von 2 Einheiten ($P = 2$) zwei Aequivalente von A (Antigen) und zwei Aequivalente von B (Präzipitin) enthält, und ein bedeutender Niederschlag von 64 Einheiten ($P = 64$) 64 Aequivalente von A und 64 Aequivalente von B. Wenn nun, wie Arrhenius annimmt, der geringe Niederschlag hauptsächlich aus Präzipitin besteht, dann muß sich entsprechend seiner eigenen Hypothese der bedeutende Niederschlag im gleichen Verhältnis aus Präzipitin zusammensetzen. Des weiteren erklärt Arrhenius (23), daß die Komplementablenkungsniederschläge bei dem Ablenkungsverfahren von Moreschi zur Hauptsache von Präzipitin herrühren müssen, eine Ansicht, welche wir durchaus teilen (24).

Die Versuche von v. Dungern (25), P. T. Müller (26, 27), Fleischmann und Michaelis (28) haben diese Autoren zu der Ansicht geführt, daß bei der Präzipitinreaktion beide ursprünglich in Lösung befindliche Komponenten (Antigen und Antikörper) eine Verringerung erfahren und daß unter günstigen Umständen beide Komponenten vollständig aus der Lösung verschwinden können. Der Niederschlag besteht danach aus einer unlöslichen Verbindung beider Komponenten und keiner dieser Komponenten wirkt auf den anderen als Ferment. Läßt man eine größere Menge Präzipitin auf eine kleine Menge Antigen einwirken, so besteht der gebildete Niederschlag aus viel Präzipitin und wenig Antigen; wirken dagegen mittlere Mengen beider Substanzen aufeinander ein, so enthält der Niederschlag ebenfalls beide Komponenten in gleichem Verhältnis.

v. Dungern (25) mischte konstante Mengen Antiserum mit steigenden Mengen Antigen und untersuchte dann die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit auf Präzipitin und „fällbare Substanz“. Zu diesem Zweck fügte er zu je einem Tropfen der verschiedenen Flüssigkeiten einen Tropfen Antigen bzw. Antiserum. Nach 20 Minuten untersuchte er unter dem Mikroskop jede der erhaltenen Mischungen auf einen Niederschlag und in jedem Falle fand er eine „Mittelzone“, in

welcher die betreffende Flüssigkeit weder mit Antiserum, noch mit Antigen einen Niederschlag ergab. Er glaubte daraus den Schluß ziehen zu können, daß in dieser Mittelzone in den verschiedenen Versuchsreihen der ganze Präzipitin- und Antigengehalt der ursprünglichen Mischungen in dem Präzipitat enthalten sei. Auch machte er Absorptionsversuche, um die wechselnde Zusammensetzung des Niederschlages zu zeigen.

Wir haben viele tausend Versuche nach v. Dungerns Methode angestellt und die erhaltenen Flüssigkeiten sowohl mit Antiserum, als auch Antigen geprüft (12, 16), aber in jedem Falle konnten wir beobachten, daß eine weitere Zugabe von Antiserum von neuem die Bildung eines Präzipitats verursachte. Die weitere Zugabe von Antigen ergab indessen nur einen erneuten Niederschlag, wenn die ursprüngliche Einwirkung eine teilweise gewesen war, dagegen keinen nach vorausgegangener vollständiger Präzipitation (vide supra). Bemerken möchten wir hier, daß die von uns untersuchten Flüssigkeitsmengen größere waren und die Einwirkungszeit eine viel längere (oft 46 Stunden).

P. T. Müller (26) hat die Wirkung von Laktoserum auf Milch verglichen mit der Gerinnung von Caseinogen durch Lab. Er zeigte, daß Laktoserum Casein fällt und in vielem anderen Lab gleicht — z. B. ist die Fällung durch Laktoserum abhängig von den vorhandenen Kalksalzen oder gewissen anderen divalenten Elementen. Die große Aehnlichkeit zwischen der Wirkung von Laktoserum und Lab beweist, daß durch Injektion von Milch erhaltene Antisera grundsätzlich in ihrer Wirkung abweichen von Antisera, hergestellt aus Blutserum und Hühnereiweiß.

Hemmung der Präzipitation.

Wir haben an anderer Stelle unsere Auffassung dieser Erscheinung und die Bedeutung unserer Experimente für Ehrlichs Hypothese erörtert (29, 30). Wenn man annimmt, daß Hemmung durch inaktives Präzipitin (Präzipitoid) hervorbracht würde, welches auf Antigenmoleküle einwirkt und dadurch die fällende Wirkung irgendwelchen hinzugefügten wirksamen Präzipitins hindert, so müßte es möglich sein, diesen Hinderungsgrund zu beseitigen durch einen Ueberschuß von

Antigen, so daß freie Moleküle vorhanden sind, welche auf das wirksame Präzipitin einwirken können. Es ist uns bei unseren Versuchen jedoch nie gelungen, nach gänzlicher Hemmung diese durch eine weitere Zugabe von Antigen aufzuheben. (In diesen Versuchen war die ursprünglich vorhandene Antigenmenge eine genügende, um den größeren Teil des präzipitablen Gehalts des Antiserums niederzuschlagen.) Unter den gleichen Bedingungen ist es uns aber meistens möglich gewesen, die Hemmung durch eine weitere Zugabe von Antiserum zu beseitigen, eine Beobachtung, welche an und für sich mit Ehrlichs Hypothese und der Theorie der Massenwirkung nicht im Widerspruch steht.

Auch die Mengenverhältnisse der bei einer Hemmungsreaktion aufeinander einwirkenden Substanzen legen der Annahme der oben angegebenen Erklärung der Hemmung durch die Wirkung von Präzipitoiden weitere Schwierigkeiten in den Weg. — Denn während unerwärmtes Antiserum niemals fähig ist, das Antigen vollständig aus seiner Lösung zu präzipitieren, ist die gleiche Menge erwärmten Antiserums imstande, den Vorgang der Präzipitation vollständig zu hemmen. Man hätte danach anzunehmen, daß die sich verbindenden Affinitäten des Präzipitoids wirksam verteilt werden könnten über eine viel größere Anzahl von Antigenmolekülen als diejenigen des Präzipitins.

Ohne weiter auf Einzelheiten einzugehen, möchten wir sagen, daß der Schluß, den wir aus unseren Resultaten glauben ziehen zu dürfen, ist, daß ein erwärmtes hemmungsfähiges Antiserum weder auf das Antigen, noch auf das Antiserum einwirkt, sondern auf das Produkt der Zusammenwirkung dieser beiden — das Präzipitat — und zwar besteht die hemmende Wirkung darin, daß das Präzipitat gelöst wird (29, 30). Die Menge des erhitzten Antiserums und die Menge von gehemmtem (Geldstein) Präzipitat scheinen in einem quantitativen Verhältnis zueinander zu stehen. Die Tatsache, daß Hemmung nicht beseitigt werden kann durch einen Ueberschuß an Antigen (in einem Falle, wo die ursprüngliche Antigenmenge schon hinreichend ist, um den präzipitablen Gehalt des Antiserums fast völlig zu präzipitieren) erklärt sich durch unsere Beobachtung, daß der Niederschlag unter diesen Um-

ständen keine merkliche Zunahme erfährt. Die weitere Erscheinung, daß unter ähnlichen Bedingungen ein Ueberschuß von nicht erwärmtem Antiserum die Hemmung aufheben kann, deckt sich mit unserer Beobachtung, daß immer hinreichend Antigen übrig bleibt, um bei neuen Zugaben von Antiserum neue Niederschläge zu bilden. Wir möchten hinzufügen, daß unsere Fällungs- (11, 31) und Hemmungsversuche (29, 30) mit nahe verwandten heterologen Proteinen unsere Auffassung von der Einwirkung von Antisera auf spezifische Antigene stützen und damit zur Festigung unserer Stellung in diesen Fragen im allgemeinen beitragen.

Zusammenfassung.

- 1) Die Hauptmenge des Präzipitats ist durch Bestandteile des Antiserums gebildet.
- 2) Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen dem Gewicht des Niederschlags und der Antiserummenge (s. Tabelle I).
- 3) Bei vollständiger Präzipitation ist das Gewicht des Niederschlags unabhängig von dem Antigengewicht (s. Tabelle III).
- 4) Bei teilweiser Präzipitation ist das Gewicht des Niederschlags bedingt durch die Antigenmenge (s. Tabelle II).
- 5) Danach ist es unrichtig, von einer Koagulation des Antigens durch das Präzipitin des Antiserums zu sprechen oder das Antigen als die fällbare Substanz anzusehen.
- 6) Die Hemmungserscheinung kann nicht erklärt werden durch die Annahme der Bildung von Präzipitoid, ist dagegen ganz im Einklang mit der Beobachtung, daß erhitzte Antisera auf den Niederschlag direkt spezifisch lösend einwirken.
- 7) Unsere Deutung der Präzipitinreaktion scheint uns von großem praktischen Wert zu sein mit Bezug auf
 - a) die Identifizierung der spezifischen Herkunft der Proteine und die Trennung nahe verwandter Arten,
 - b) die Bestimmung des Wertes oder morphologischen Charakters der Ordnungen, Familien und Arten der Pflanzen, wie durch einen von uns angeregt, und
 - c) die Verbesserung von Methoden zur Untersuchung der Zusammenwirkung von Antigen und Antiserum durch Komplementablenkung.

Literatur.

- 1) Cramer, Journ. of Physiol., Vol. 37, 1908, p. 146.
- 2) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 15, 1901, p. 143.
- 3) Myers, Lancet, Vol. 2, 1900, p. 98, und Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 28, 1900, p. 237.
- 4) Michaelis und Oppenheimer, Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abt., Suppl.), 1902, p. 336.
- 5) Müller, Münch. med. Wochenschr., Bd. 49, 1902, p. 1330.
- 6) Leblanc, La Cellule, Vol. 18, 1901, p. 337.
- 7) Eisenberg, Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 31, 1902, p. 773.
- 8) Grünbaum, Lancet, Vol. 1, 1902, p. 143.
- 9) Robin, zit. von Nuttall, Ref. No. 10, p. 101.
- 10) Nuttall, Blood Immunity and Relationship, Cambridge 1904.
- 11) Welsh and Chapman, Austral. Med. Gazette, Vol. 25, 1906, p. 7.
- 12) — — Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 78, 1906, p. 297.
- 13) — — Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 80, 1908, p. 161.
- 14) — — Trans. Austral. med. Congress, eighth session, Vol. 11, p. 269, Melbourne 1909.
- 15) Chapman, Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 82, 1910, p. 398.
- 16) Welsh and Chapman, Journ. of Hyg., Vol. 6, 1906, p. 251.
- 17) Adami, Principles of Pathology, Vol. 1, p. 483, Philadelphia and New York 1908.
- 18) Arrhenius, Ergebn. der Physiol., Bd. 7, p. 541, Wiesbaden 1908.
- 19) Hunter, Journ. of Physiol., Vol. 33, 1905, p. 239.
- 20) Arrhenius und Hamburger, Referat, Biochem. Centralbl., Bd. 5, 1906, p. 395.
- 21) — Immunochemistry, p. 288, New York 1907.
- 22) — Ergebn. der Physiol., Bd. 7, p. 545, Wiesbaden 1908.
- 23) — Ibid., p. 548.
- 24) Chapman, Proc. Linn. Soc. New South Wales, 1910.
- 25) v. Dungern, Centralbl. f. Bakteriol., Orig., Bd. 34, 1903, p. 355.
- 26) Müller, Archiv f. Hyg., Bd. 44, 1902, p. 126.
- 27) — Centralbl. f. Bakteriol., Orig., Bd. 32, 1902, p. 521.
- 28) Fleischmann und Michaelis, zit. von Michaelis, Oppenheims Handbuch der Biochemie, Bd. 11, Heft 1, p. 565, Jena 1909.
- 29) Welsh and Chapman, Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 79, 1907 p. 465.
- 30) — — Journ. of Pathol. and Bacteriol., Vol. 13, 1909, p. 206.
- 31) — — Journ. of Hyg., 1910, p. 122.
- 32) Moll, zit. von Rodet, loc. cit.
- 33) Rodet, Compt. Rend. Soc. de Biol. Paris, 1906, p. 671.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Serobakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin.]

Untersuchungen über antigene Eigenschaften von Lipoiden.

II. Mitteilung.

Weitere Versuche über die antigenen Bandwurmlipoide.

Von Dr. Kurt Meyer.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1911.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ teilte ich mit, daß das spezifische Komplementbindungsvermögen von Bandwurmemtrakten an die Gegenwart eines Lipoids gebunden sei. Dieses erwies sich als löslich in Alkohol, Aether und Benzol, unlöslich in Aceton. Es wurde nicht von Pepsin und Trypsin, wohl aber von Lipase zerstört. In seinen Eigenschaften verhielt es sich also wie Lecithin. Die Frage, ob das gesamte Lecithin des Bandwurms als Antigen wirkt oder ob das Antigen nur einen Teil der Lecithinfraktion bildet, mußte offen gelassen werden, ebenso die Frage, ob das Lipoid auch in dem Sinne antigen wirkt, daß es im Tierkörper Antikörperbildung hervorruft, wie nach der Ehrlichschen Theorie auf Grund seiner antikörperbindenden Eigenschaften zu fordern wäre.

Seitdem ist es mir durch Verarbeitung einer größeren Zahl von Bandwürmern (*Taenia saginata*) gelungen, die Lipoiden in etwas reichlicherer Menge zu isolieren. Es wurde mir dadurch möglich, die früher gewonnenen Ergebnisse einer Nachprüfung zu unterziehen und einige ergänzende Versuche anzustellen.

I.

Bei der Darstellung der Lipoiden ging ich wieder von dem Verdampfungsrückstand der bei 37° hergestellten alkoholischen Bandwurmemtrakte aus. Dieser wurde erschöpfend mit wasserfreiem Aether extrahiert und nach Verdampfung des Aethers der Rückstand, dessen Menge 2,0 g betrug, mit Benzol aufgenommen. Es blieb ein minimaler Rückstand, der

1) Kurt Meyer, Diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 732.

sich bei der späteren Untersuchung als unwirksam erwies. Die Benzol-lösung wurde zur Trockne gebracht und der Rückstand mit wasserfreiem Aceton extrahiert, bis nichts mehr in Lösung ging. Der acetonunlösliche Rückstand wurde nunmehr nicht wie früher mit Alkohol, sondern mit Petroläther behandelt. Es blieb ein Rückstand, der sich in Benzol löste. Die petrolätherische Lösung wurde mit einem Ueberschuß von absolutem Alkohol versetzt und der entstehende Niederschlag von der Flüssigkeit getrennt.

Der Unterschied des jetzigen gegenüber dem früheren Verfahren liegt darin, daß aus den acetonunlöslichen Lipoiden eine weitere, nämlich petrolätherunlösliche, benzollösliche Fraktion gewonnen wurde, die sich später auch als löslich in warmem Alkohol erwies.

Nachstehend folgt eine Uebersicht der gewonnenen Fraktionen und ihrer Mengenverhältnisse. Mit den in Klammern beigefügten römischen Ziffern sollen die Fraktionen weiterhin bezeichnet werden.

- | | |
|-----------------------|--------------|
| 1) Acetonlöslich | 0,8 g (I) |
| 2) Acetonunlöslich | |
| a) Petrolätherlöslich | |
| α) Alkohollöslich | 0,75 g (II) |
| β) Alkoholunlöslich | 0,3 g (III) |
| b) Benzollöslich | 0,03 g (IV). |

Was die chemische Charakterisierung der einzelnen Fraktionen betrifft, so enthält Fraktion I im wesentlichen Fette und Fettsäuren, Fraktion II Lipide vom Charakter des Lecithins, Fraktion III solche vom Charakter des Kephalins, Kuorins usw. Fraktion IV könnte nach den Lösungsverhältnissen aus Cerebrosiden bestehen. Bei den geringen zur Verfügung stehenden Substanzmengen war eine nähere Untersuchung nicht möglich. Eine mit einem Körnchen Substanz angestellte Pettenkofer'sche Reaktion gab ein negatives Resultat. Der Schmelzpunkt schien ziemlich hoch, jedenfalls über 100° zu liegen, doch war wegen eintretender Zersetzung eine genauere Bestimmung nicht möglich. Naturgemäß lassen sich aus diesen unsicheren Befunden keine verwertbaren Schlüsse ziehen.

Die bei der Prüfung des Komplementbindungsvermögens der einzelnen in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Fraktionen

gewonnenen Resultate stimmen mit den früheren Ergebnissen nicht völlig überein. Zunächst wurde wieder das Eigenhemmungsvermögen der Lipoiden festgestellt (Tabelle I).

Tabelle I.

Aufschwemmung 1 : 500	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III	Fraktion IV
1,0 ccm	0	k. H.	0	0
0,5 "	0	k. H.	0	Spur
0,2 "	i. H.	k. H.	0	i. H.
0,1 "	k. H.	k. H.	0	k. H.
0,0 "	k. H.	k. H.	0	k. H.
0,02 "	k. H.	k. H.	f. k. H.	k. H.

Wie früher zeigte zwar Fraktion I starkes, Fraktion II nicht nachweisbares Hemmungsvermögen — auch bei 2 ccm war nur eine ganz geringe Hemmung der Hämolyse erkennbar —, dagegen wies auffallenderweise Fraktion III, die früher ebenfalls keine Hemmung ausgeübt hatte, jetzt ein außerordentlich starkes Hemmungsvermögen auf. Noch 0,1 mg vermochte die Komplementwirkung von 0,05 ccm Meerschweinchen-serum völlig aufzuheben.

Worauf dieser Unterschied zurückzuführen ist, ob bei der früheren Darstellung die fragliche Fraktion mit unwirksamen Substanzen verunreinigt war, ob das jetzige starke Hemmungsvermögen durch Veränderungen physikalischer oder chemischer Natur bedingt ist, muß einstweilen unentschieden bleiben.

Fraktion IV, die früher nicht isoliert war, zeigte ebenfalls ein nicht unerhebliches Hemmungsvermögen.

Bei der Prüfung auf spezifisches Komplementbindungsvermögen wurden fallende Mengen der Lipoiden mit je 0,005 ccm des auch früher benutzten Kaninchenimmunserums versetzt (Tabelle II).

Tabelle II.

Aufschwemmung 1 : 500	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III	Fraktion IV
0,2 ccm	k. H.	0	0	0
0,1 "	k. H.	0	0	0
0,05 "	k. H.	0	0	0
0,02 "	k. H.	0	0	Spur
0,01 "	k. H.	i. H.	i. H.	i. H.
0,005 "	k. H.	k. H.	f. k. H.	k. H.

Während die acetonlösliche Fraktion I wie früher kein spezifisches Komplementbindungsvermögen zeigte, ergab sich bei Fraktion III ein analoger Unterschied wie oben. Sie zeigte eine Wirksamkeit, die der der Lecithinfraktion II gleichkam. Auch die neu dargestellte Fraktion IV wies ein annähernd ebenso starkes Komplementbindungsvermögen auf, wie die Lecithinfraktion. Wir werden nach diesen Befunden die Fähigkeit, mit dem spezifischen Antikörper unter Komplementbindung zu reagieren, nicht auf die Lipoiden vom Charakter des Lecithins beschränken dürfen, sondern sie als allgemeine Eigentümlichkeit acetonunlöslicher Bandwurmlipoiden ansehen müssen. Die Frage, ob sie den Fraktionen als Ganzes oder nur einzelnen in ihnen enthaltenen Bestandteilen zukommt, muß unentschieden bleiben, solange nicht weitere Fraktionierungsversuche an größeren Materialmengen möglich sind. Vielleicht ließe sich für die erste Möglichkeit die annähernd gleiche Wirksamkeit der drei Fraktionen geltend machen.

Diese Gleichheit der Wirksamkeit ist jedoch keine absolute. In einer Hinsicht nämlich zeigen die drei acetonunlöslichen Fraktionen wesentliche Unterschiede. Setzt man das spezifische Komplementbindungsvermögen in Beziehung zu der Eigenhemmung jeder Fraktion, so sieht man, daß sie sich bei Fraktion III wie 1:2,5, bei Fraktion IV wie 1:20 verhalten; bei Fraktion II dagegen, die nur minimale Eigenhemmung zeigt, ist das Verhältnis kleiner als 1:100.

Ohne Zweifel sind diese Unterschiede von Bedeutung. Allerdings ist die Frage, ob das Komplementbindungsvermögen einer antigenhaltigen Flüssigkeit nach der Verdünnung zu bewerten ist, in der sie mit einer bestimmten Menge Antiserum reagiert oder nach dem Verhältnis von Eigenhemmung zu spezifischem Komplementbindungsvermögen, noch kaum diskutiert worden und wird auch, solange die Theorie des Komplementbindungsprozesses nicht besser erkannt ist, kaum ihre Beantwortung finden. Wir werden es daher einstweilen noch unentschieden lassen müssen, ob das Komplementbindungsvermögen der drei acetonunlöslichen Fraktionen gleichzusetzen ist.

Der Grenzwert der völligen Komplementbindung liegt bei Fraktion II bei 0,02 ccm einer Lösung 1 : 500 in Gegenwart von 0,005 ccm Antiserum. Bei dem früher dargestellten Lecithinpräparat lag dieser Wert bei 0,01 ccm. Diese Differenz dürfte aber nicht auf Wirkungsunterschiede der Lipide, sondern auf Veränderungen im Antiserum zurückzuführen sein, wie sie in einem Zeitraum von $\frac{3}{4}$ Jahren nicht auffallen können. Anhaltspunkte für solche Veränderungen ergeben sich aus der folgenden Tabelle III, in der die Wirksamkeit des Lipoids in Gegenwart steigender Serummengen dargestellt ist. Die früher beobachteten Resultate sind in Klammern beigefügt.

Tabelle III.

Fraktion II 1 : 500	Antiserum		
	0,001 ccm	0,005 ccm	0,05 ccm
0,2 ccm	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,1 "	i. H. (0)	0 (0)	0 (0)
0,05 "	f. k. H. (0)	0 (0)	0 (0)
0,02 "	k. H. (0)	0 (0)	0 (0)
0,01 "	k. H. (f. k. H.)	i. (0)	0 (0)
0,005 "	k. H. (f. k. H.)	f. k. H. (i. H.)	0 (0)
0,002 "	k. H. (k. H.)	k. H. (i. H.)	k. H. (0)
0,001 "	k. H. (k. H.)	k. H. (k. H.)	k. H. (i. H.)

Man sieht aus der Tabelle, daß in Gegenwart von 0,005 ccm und 0,05 ccm Serum die Wirksamkeit gegenüber früher auf die Hälfte gesunken ist; in Gegenwart von 0,001 ccm Serum ist dagegen die Wirksamkeit auf den zehnten Teil reduziert. Ich glaube, daß dieses eigentümliche Verhalten nur mit Veränderungen in der Avidität der Antikörper zu erklären ist, indem deren Reaktionsfähigkeit in höherer Verdünnung abgenommen hat. Man wird daher die anscheinend geringe Wirksamkeit der jetzt isolierten Lipide ohne Bedenken auf Veränderungen des Antiserums zurückführen dürfen, mögen diese nun allein eine Abnahme der Avidität der Antikörper oder auch eine Verringerung ihrer Menge bewirkt haben.

Daß es sich bei der gefundenen Zahl um einen konstanten Wert handelt, glaube ich auch daraus schließen zu dürfen, daß zwei bei anderen Darstellungen gewonnene Lecithinfraktionen genau die gleiche Wirksamkeit aufwiesen.

II.

Da eingehendere Untersuchungen über die Eigenschaften komplementbindender Lipoiden noch nicht vorliegen, schien es von Interesse, das Verhalten des Bandwurm-„Lecithins“ gegenüber einigen physikalischen und chemischen Prozessen einer Prüfung zu unterziehen.

Zunächst wurde die Wirkung des Erhitzens untersucht. Aufschwemmungen des Lipoids wurden verschieden lange Zeit auf 100° und im Autoklaven auf 115° erhitzt (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Lipidaufschwemmung 1:5000	Auf 100° erhitzt			Bis auf 115° erhitzt	Nicht erhitzt
	5'	15'	30'		
0,5 ccm	0	0	0	0	0
0,2 „	0	0	0	i. H.	0
0,1 „	0	i. H.	i. H.	k. H.	i. H.
0,05 „	i. H.	f. k. H.	k. H.	k. H.	k. H.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß kurzdauernde Erwärmung auf 100° die Wirksamkeit des Lipoids auf das Doppelte steigert. Bei längerer Erhitzung scheint diese Zunahme der Wirksamkeit allmählich wieder zurückzugehen. Erhitzung auf 115° bewirkt Verringerung der Wirksamkeit, aber nur mäßigen Grades. Man wird hiernach dem Lipoid eine hohe Thermo-resistenz zuschreiben dürfen.

Die vorübergehende Aktivitätszunahme beim Erhitzen erinnert an das Verhalten der bei der Wassermannschen Reaktion verwendeten alkoholischen Organextrakte, wie es von Eisenberg und Nitsch¹⁾ beschrieben wurde.

Diese Beobachtung forderte dazu auf, nach weiteren Analogien zwischen dem spezifischen Bandwurmlipoid und den unspezifischen Organextrakten zu suchen. Eine solche ergab sich bei der Prüfung des Sachs-Rondonischen Verdünnungsphänomens. Die alkoholische Lipoidlösung wurde das eine Mal schnell in die entsprechende Kochsalzmenge eingeblasen, das andere Mal tropfenweise mit der Kochsalzlösung versetzt. Im ersten Falle zeigte die Lösung nur ganz geringe Opaleszenz, im zweiten war sie milchig getrübt. Auch in der Wirksamkeit war ein Unterschied zu erkennen (Tabelle V).

1) Eisenberg und Nitsch, Diese Zeitschrift, Bd. 4, 1909, p. 331.

Tabelle V.

Lipidaufschwemmung 1 : 5000	Schnell verdünnt	Fraktioniert verdünnt
0,5 ccm	0	0
0,3 „	Spur	0
0,2 „	i. H.	Spur
0,15 „	k. H.	i. H.
0,1 „	k. H.	f. k. H.

Ist die Differenz auch nicht so groß, wie sie bei der Verdünnung von Organextrakten zu sein pflegt; so ist doch ein Einfluß der Verdünnungsgeschwindigkeit nicht zu verkennen. Ebenso wie bei der Wirkung der Erhitzung zeigt sich hier, von welcher Bedeutung auch für das Komplementbindungsvermögen spezifischer Antigene physikalische Zustandsänderungen sein können.

Bei der Einwirkung von Alkali und Säure ergab sich ein Verhalten, das dem der Organextrakte gerade entgegengesetzt ist. Eine Aufschwemmung des Lipoids 1 : 500 wurde mit dem gleichen Volumen n-Salzsäure und n-Natronlauge versetzt und 24 Stunden bei 37° gehalten. Hinterher wurden die Gemische sorgfältig neutralisiert. Die Angaben der folgenden Tabelle VI sind auf die Ausgangsvolumina der Lipide bezogen.

Tabelle VI.

Lipidaufschwemmung 1 : 500	ohne Zusatz	+ n-HCl	+ n-NaOH	+ n-NaOH ohne Antiserum (Eigenhemmung)
0,05 ccm	0	0	i. H.	i. H.
0,02 „	0	0	k. H.	k. H.
0,01 „	i. H.	Spur	k. H.	k. H.
0,005 „	k. H.	f. k. H.	k. H.	k. H.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß unter der Einwirkung der Säure die Wirksamkeit zugenommen hatte. Durch die Lauge dagegen war das spezifische Komplementbindungsvermögen aufgehoben worden, während die Eigenhemmung erheblich verstärkt war. Im Gegensatz dazu büßen nach den Untersuchungen von Abramow¹⁾ die Organextrakte durch

1) Abramow, Diese Zeitschrift, Bd. 8, 1910, p. 145.

Vorbehandlung mit Säure ihre charakteristische Wirksamkeit ein, während Alkalieinwirkung unschädlich ist.

Die schädigende Wirkung des Alkalis auf das Bandwurmlipoid kann nicht überraschen, da die zerstörende Wirkung der Alkalien auf Phosphatide bekannt ist. Ebenso ist es bei der Resistenz der Phosphatide gegenüber Säuren nicht auffallend, daß die Säure die Wirksamkeit nicht vermindert hat. Worauf die verstärkende Wirkung der Säure zurückzuführen ist, ob es sich hierbei um physikalische oder chemische Veränderungen handelt, muß dahingestellt bleiben.

Das lecithinähnliche Lipoid wurde dann noch einer Reihe von chemischen Prozeduren unterworfen, die charakteristische Reaktionen der Lipoiden hervortreten lassen. Zunächst wurde die Wirkung von Reagentien untersucht, die den ungesättigten Charakter der Phosphatide aufheben. Es kamen die Oxydation und die Bromierung in Frage.

Als Oxydationsmittel wurde zunächst Kaliumpermanganat in verdünnter Sodalösung verwandt. Wie Tabelle VII zeigt, wurde die Wirksamkeit des Lipoids völlig aufgehoben. Allerdings mußte damit gerechnet werden, daß das Lipoid von dem ausfallenden Mangansuperoxyd adsorbiert worden war. Der Niederschlag wurde daher mit Alkohol extrahiert. Das Extrakt erwies sich als unwirksam. Da aber eine irreversible Adsorption eingetreten sein konnte, wurde noch ein anderes Oxydationsmittel benutzt, nämlich Wasserstoffsuperoxyd. Die wässrige Lipoidaufschwemmung wurde mit dem gleichen Volumen 3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd wurde nach Möglichkeit durch Blutkatalase zersetzt. Bei der Untersuchung erwies sich das Lipoid wiederum als inaktiviert (Tabelle VII).

Die Bromierung hatte ein ganz analoges Ergebnis. 0,02 g des Lipoids wurden in Chloroform gelöst und mit einer Lösung von Brom in Chloroform so lange versetzt, als das Brom noch gebunden wurde. Das Chloroform wurde im Vakuum verjagt und der Rückstand in der 500-fachen Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Wie aus Tabelle VII hervorgeht, war die Wirksamkeit bis auf Spuren aufgehoben.

Tabelle VII.

Aufschwemmung 1 : 500	Mit Per- manganat behandelt	Extrakt des Mengen- nieder- schlags	Mit H_2O_2 behandelt	Mit Brom behandelt	Un- behandelt
0,2	k. H.	k. H.	i. H.	k. H.	0
0,1	k. H.	k. H.	i. H.	f. k. H.	0
0,05	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	0
0,02	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	0
0,01	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	i. H.

Endlich wurde noch das Verhalten des Bandwurmlécithins gegenüber Cadmiumchlorid untersucht, das, wie bekannt, die Phosphatide aus ihrer alkoholischen Lösung ausfällt. 0,02 g des Lipoids wurden, in Alkohol gelöst, mit einer gesättigten alkoholischen Lösung von Cadmiumchlorid tropfenweise versetzt, solange noch ein Niederschlag entstand. Der Niederschlag, dessen Menge annähernd 0,02 g betrug, wurde mit Alkohol gewaschen und zum Teil in der 500-fachen Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die alkoholische Lösung wurde eingeeengt und der Rückstand mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Endlich wurde ein Teil der Cadmiumfällung mit einer stark verdünnten alkoholischen Ammoniumkarbonatlösung ausgekocht, um das Phosphatid wieder in freiem Zustand zu gewinnen.

In der nachfolgenden Tabelle VIII ist die Wirksamkeit der einzelnen Fraktionen im Komplementbindungsversuch wiedergegeben; wegen der starken Eigenhemmung der Aufschwemmungen ist diese ebenfalls in der Tabelle dargestellt.

Tabelle VIII.

Aufschwemmung 1 : 500	Ohne Antiserum			Mit Antiserum			Unbe- handelt
	$CdCl_2$ - Fällung	Durch $CdCl_2$ nicht gefällt	Zer- setzungs- flüssigkeit der $CdCl_2$ -Fällg.	$CdCl_2$ - Fällung	Durch $CdCl_2$ nicht gefällt	Waschungs- flüssigkeit der $CdCl_2$ -Fällg.	
0,5	i. H.	0	k. H.	0		0	0
0,2	f. k. H.	i. H.	k. H.	0		Spur	0
0,1	k. H.	f. k. H.	k. H.	0	0	f. k. H.	0
0,05	k. H.	k. H.	k. H.	Spur	0	k. H.	0
0,02	k. H.	k. H.	k. H.	i. H.	Spur	k. H.	0
0,01	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	i. H.	k. H.	i. H.

Aus der Tabelle ergibt sich als wichtiges Resultat, daß die CdCl_2 -Fällung ein hohes spezifisches Komplementbindungsvermögen zeigte. Die Eigenhemmung war verhältnismäßig gering. Berücksichtigt man, daß die Fällung etwa zum vierten Teile aus CdCl_2 besteht, so kann man ihre Wirksamkeit der des reinen Lipoids nahezu gleichsetzen. Schwieriger ist die Beurteilung der Wirksamkeit der gelöstbleibenden Fraktion. Ihr Komplementbindungsvermögen ist, absolut genommen, vollkommen gleich dem des Lipoids selbst. Sie zeigt aber so starkes Eigenhemmungsvermögen, daß es bedenklich erscheint, der im Komplementbindungsversuch ermittelten Wirksamkeit allzuviel Wert beizulegen. Dazu kommt, daß über die Natur der bei der Cadmiumfällung stets gelöst bleibenden Substanzen, ob es sich um die gleiche Verbindung wie in der Fällung, oder um Cadmiumverbindungen eines anderen Phosphatides, oder endlich um Zersetzungsprodukte handelt, bisher nichts Sicheres bekannt ist. Es dürfte daher zweckmäßig sein, diese Fraktion vorläufig nicht weiter zu berücksichtigen.

Was schließlich die durch Behandlung des Niederschlages mit Ammoniumkarbonat gewonnene Zersetzungsflüssigkeit betrifft, so zeigte sie zwar deutliche, aber quantitativ nur geringe Wirksamkeit. Ob es sich dabei tatsächlich um eine chemische Wiederabspaltung des Phosphatids handelte oder um eine Lösung adsorbierten Phosphatids, bleibe dahingestellt.

Erwähnt sei noch, daß Kontrollversuche angestellt wurden, einmal, ob die Cadmiumverbindung etwa auch mit normalem Serum unter Komplementbindung reagierte, sodann, ob die Cadmiumverbindung des Lecithins ex ovo (Merck) mit Bandwurmmunserum Komplementbindung gab. Beides war nicht der Fall, so daß an der Spezifität der oben wiedergegebenen Reaktionen kein Zweifel sein kann.

Ueberblicken wir noch einmal das Ergebnis der chemischen Versuche, so finden wir es in Uebereinstimmung mit dem früheren Nachweis der Lipoidnatur des Bandwurmantigens. Hatten wir damals aus seiner Löslichkeit in Alkohol, Aether und Benzol, seiner Unlöslichkeit in Aceton sowie aus seiner Zerstörbarkeit durch Lipoid auf seinen Phosphatidcharakter geschlossen, so ergibt sich jetzt eine Bestätigung hierfür aus seiner leichten Zerstörbarkeit durch Alkali seiner Resistenz

gegenüber Säure, seiner Inaktivierung bei der Oxydation und Bromierung, sowie aus seiner Fällbarkeit durch Cadmiumchlorid. Die Versuche lassen ferner auf die Bedeutung bestimmter Gruppen für die antigene Wirksamkeit schließen. Die zerstörende Wirkung der Oxydation und Bromierung spricht für die Wichtigkeit des ungesättigten Charakters, die Wirksamkeit der Cadmiumverbindung für die Indifferenz der bei ihrer Bildung beteiligten Gruppen. Dabei soll aber nicht vergessen werden, daß alle diese Schlüsse bei den unvollkommenen Kenntnissen von der Struktur der verschiedenen Phosphatide einen ganz vorläufigen Charakter tragen.

Zusammenfassung.

Das spezifische Komplementbindungsvermögen kommt allen durch ihre Acetonunlöslichkeit gekennzeichneten Lipoiden des Bandwurms zu, und zwar anscheinend in annähernd gleicher Stärke.

Die Stärke des Komplementbindungsvermögens der „Le-cithin“-Fraktion wurde bei verschiedenen Darstellungen konstant gefunden.

Wie die Wirksamkeit der unspezifischen alkoholischen Organextrakte bei der Wassermannschen Reaktion erweist sich auch das spezifische Komplementbindungsvermögen der Bandwurmlipoide als abhängig vom physikalischen Zustande. Es nimmt beim Erhitzen vorübergehend zu und ist in fraktioniert hergestellten Verdünnungen stärker als in einfachen Verdünnungen.

Das Komplementbindungsvermögen der Bandwurmlipoide wird durch Säureeinwirkung verstärkt, durch Alkali aufgehoben. Es wird ferner zerstört bei Oxydation mit Kaliumpermanganat und Wasserstoffsperoxyd sowie bei der Bromierung. Dagegen bleibt es erhalten bei der Fällung mit Cadmiumchlorid.

Nachdruck verboten.

[Aus der Universitäts-Augenlinik in Freiburg i. Br.
(Direktor: Geheimrat Axenfeld).]

Die Immunitätsverhältnisse der Hornhaut.

Von Dr. S. Miyashita, Tokio (Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1911.)

Bevor ich auf die Hauptfrage der Immunität der Hornhaut eingehe, möchte ich kurz die physiologischen Ergebnisse über die Ernährung der Hornhaut zusammenfassen, um die sich vor allem Th. Leber verdient gemacht hat.

Nach den Forschungen von Th. Leber (1, 6, 17), Laqueur (2), Adamück (3), Kisielow (4), Lilienfeld (5), Krükow (7), Denis-senko (8, 10), Pflüger (9), Schöler und Uhthoff (11), Straub (12), Guttman (13), v. Recklinghausen (14), Gifford (15), R. Gruber (16), Wessely (18) u. a. steht zunächst fest, daß die Cornea für ihren Stoffwechsel Nährstoffe nur in ganz bescheidener Menge in Anspruch nimmt. Sie hat in der Hauptsache bloß ihr bescheiden wachsendes Gewebe durch physiologische Regeneration zu ersetzen. Es gibt in der Cornea keine eigentlichen Flüssigkeitsströme unter normalen Umständen. Die Ernährung wird jedenfalls zum größten Teil vom Randschlängernetz aus besorgt, und zwar auf dem Wege der Imbibition und Osmose durch molekuläre Bewegung. Die Saftkanälchen verlaufen interlamellär und stehen mit dem Randschlängennetz in Verbindung. Nach den Untersuchungen mit kristal-loiden Substanzen geht der Saftstrom radiär zentripetal. Ob derselbe weiter sich auf die Venen des Randschlängennetzes fortpflanzt oder nach hinten in die Vorderkammer mündet, steht noch nicht fest. Wenn die Flüssigkeit von hinten in die Cornea eindringt, so ist zwar die Descemeti für sie nicht undurchgängig, aber der Weg von den Fontanaschen Räumen vom Rand der Cornea in dieselbe ist freier. Das Endothel spielt hierbei eine große Rolle. Wenn die Descemeti vom Endothel entblößt ist, so durchdringt die Flüssigkeit leicht die Hornhaut, auch wenn das Epithel noch intakt ist. Das vordere Hornhautepithel schützt die Cornea normalerweise vom Eindringen der Flüssigkeit von vorn. Es ist aber nicht absolut impermeabel. Die Untersuchungen über den Durchgang durch die Cornea zum Kammerwasser mit verschiedenen Substanzen, zum Teil Alkaloiden, wie Eserin, Atropin, Strychnin u. a., sind nicht ganz einwandfrei. Es ist sicher anzunehmen, daß mindestens ein Teil dieser Substanzen zunächst von den Conjunctivalgefäßen resorbiert wird und dann in das Kammerwasser diffundiert.

Sobald die Cornea Entzündungserscheinungen aufweist, so wird der Saftstrom von einer regeren Emigration von Leukocyten vom Randschlingennetz her begleitet als normal. Dieser Unterschied ist klar im Auge zu behalten. Die Impfversuche der Cornea mit Diphtherietoxin und verschiedenen Bakterien bei immunisierten Tieren haben ergeben, daß verschiedene Antikörper vom Blutserum in die Cornea übergehen und auf diese Weise die Cornea von deletären Prozessen, die bei den Kontrolltieren sich abspielen, bis zu einem gewissen Grade schützen. Diese Ergebnisse gelten aber, wie gesagt, bloß für die entzündete Cornea. Die Frage des Antikörperübergangs in die normale, entzündungsfreie Cornea ist somit eine selbständige, obwohl man annehmen könnte, daß das Verhältnis bei der Entzündung höchstwahrscheinlich in bescheidenerem Maß für den Normalzustand gilt. Da auch verschiedene kolloidale Substanzen vom Blut in die Cornea nachweisbar übergehen, war die Annahme von vornherein sehr wahrscheinlich, daß die großmolekulären Antikörper auch daselbst sich einfinden könnten. Immerhin ist eine besondere Studie nach dieser Richtung wohl der Mühe wert und berechtigt.

Im folgenden werde ich auf drei Hauptfragen eingehen:

- 1) Die Anteilnahme der Cornea an der allgemeinen Körperimmunität.
- 2) Lokale Immunität der Cornea.
- 3) Immunisierung des Körpers von der Cornea aus.

1. Die Anteilnahme der Cornea an der allgemeinen Körperimmunität.

Diese Frage ist ein Objekt eifriger Forschungen seit langer Zeit gewesen. Das ist begreiflich, weil dieselbe in praktischer Hinsicht eine außerordentlich große Bedeutung hat. Denn die Serumtherapie der Hornhauterkrankungen setzt ja voraus, daß der Uebergang der kolloidalen Antikörper auch in die gefäßlose Cornea auf dem Wege der Diffusion stattfinden kann.

Um für das Thema eine vollkommene Klarheit zu verschaffen, wollen wir die einzelnen Formen der Immunität für sich allein betrachten.

Schweinerotlaufimmunität.

Im Jahre 1881 stellte Loeffler (21) zunächst diesbezügliche Experimente mit den Mäuseseptikämiebacillen an Kaninchen an. Das Resultat war regelmäßig und eindeutig. Die Mäuseseptikämiebacillen sind nach dem jetzigen Stand der Bakteriologie mit den Schweinerotlaufbacillen identisch.

Die Kaninchen sind empfänglich für die Mäuseseptikämiebacillen. Die letzteren bringen, unter die Ohrhaut geimpft, eine heftige Entzündung in loco hervor. In das Cornealparenchym geimpft, entsteht eine typische Keratitis, die eine Inkubationszeit von 2—3 Tagen hat und ungefähr in einer Woche zur Reparation übergeht, falls das Tier überhaupt die Infektion übersteht. Manche Tiere gehen an einer allgemeinen Infektion ein.

Alle die Tiere nun, welche die Impfung am Ohr oder auf der Cornea überstanden hatten, waren nach Ablauf einer gewissen Zeit immun gegen jede neue Impfung, sei es mit septischem Mäuseblut, sei es mit Kulturen der Septikämiebacillen. Wenn ein Zeitraum von 3—4 Wochen nach der immunisierenden Impfung verstrichen war, war das Resultat der II. Impfung auf den anderen Corneae stets negativ. Damit ist zunächst bewiesen, daß die Cornea an dieser Art der Immunität teilnimmt. Dabei war es merkwürdig, daß die Immunität der Cornea eine zeitliche Differenz mit der allgemeinen Immunität aufwies. Loeffler schreibt unter anderem: „Impft man ein Tier am rechten Ohr, nach etwa 8 Tagen am linken, so erfolgt keine Reaktion. Wollte man hieraus nun den Schluß ziehen, daß das Tier bereits immun sei, so würde man fehlgehen, eine Impfung auf der Cornea sei noch von Erfolg. Der Zeitraum für das Immunwerden eines Ohres nach vorausgeschickter Impfung des anderen beträgt ca. 1 Woche, bis zur völligen Immunität der Cornea nach Impfung eines Ohres dagegen ca. 3 Wochen.“

Dieses Ergebnis mit der aktiven Immunisierung wurde durch dasjenige Römers mit der passiven Immunisierung ergänzt. Römer immunisierte 4 Kaninchen und eine Anzahl von Tauben durch subkutane Darreichung des Rotlaufserums passiv. Die Infektion erfolgte durch einen oberflächlichen Epithelriß oder eine oberflächliche Verletzung mittels einer mit infektiösem Blut der Maus behafteten Nadel. Bei den immunisierten Tieren blieben die Augen gesund, während die Kontrolltiere eine Keratitis bekamen.

Ich konnte diese Immunität genau studieren, und zwar die aktive ebenso wie die passive.

Mein Resultat deckte sich aber nicht ganz mit dem Römers (19).

Das Schweinerotlaufserum wurde mir von Prof. Schlegel zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm noch an dieser Stelle danken möchte. Dasselbe war im tierhygienischen Institut in Freiburg i. Br. hergestellt und auf seine Wirksamkeit geprüft. Aus der Gebrauchsanweisung geht hervor, daß die Schutzdosis, welche den Schweinen einen Schutz von einigen Wochen zu verleihen imstande ist, für 10 Kilo Gewicht 1 ccm betrug. Die Schweinerotlaufbacillenkultur stammte ebenfalls von demselben Institut und war ein dem Serum homologer Stamm.

Dieses Immunserum wurde den Kaninchen mit 2 Kilo-Gewicht in einer Menge von 1,0—3,0 ccm entweder subkutan oder intravenös, aber stets viele Stunden vor der Infektion injiziert. Die Infektion erfolgte durchweg durch eine Taschenwunde mittels einer Kanüle der Pravazschen Spritze, die eine Aufschwemmung des infektiösen Mäuseherzblutes in physiologischer Kochsalzlösung enthielt, da die Infektion mit einer infizierten Nadel oft negativ ausfiel.

Das Gesamtergebnis war mit einem Wort äußerst ungleichmäßig. Ich konnte mich nur von einer schwachen Beeinflussung des Krankheitsverlaufs durch die Seruminjektion überzeugen.

Worin die Ursache der Differenz zwischen den Ergebnissen von Römer und mir liegt, läßt sich nicht ohne weiteres eruieren, zumal mein Immunserum tadellos graue Mäuse vor der allgemeinen Infektion schützte.

Dagegen ist die Angabe Loefflers im allgemeinen von mir bestätigt worden. Besonders möchte ich betonen, daß die aktive Immunisierung durch eine Impfung am Ohr in einem Zeitraum von 3 Wochen eine Cornealimmunität herbeiführt. Die Augen bleiben reizlos. Die Impfungen der Cornea blieben ohne Erfolg. Eins möchte ich aber hervorheben und zwar, daß ich zweimal eine Regelwidrigkeit getroffen habe insofern, als noch 26 Tage nach der Impfung einer Cornea die Impfung auf der anderen Seite positiv ausfiel.

Pneumokokkenimmunität.

Dank der eifrigen Arbeit Römers (19, 20) wurde durch zahlreiche experimentelle Untersuchungen einwandsfrei festgestellt, daß die Antikörper, die Träger der Pneumokokkenimmunität — was sie auch seien — in die Cornea übergehen. Nachdem diese Frage prinzipiell im bejahenden Sinne gelöst wurde, kam der zweite Punkt in Frage, der ebenfalls von großer praktischer Tragweite ist, in welchem Umfange dieser Uebergang der Schutzkörper vom Blutserum zur Cornea von statten geht. Ich verweise darüber auf meine Arbeit über „Die Pneumokokkenimmunität“, welche demnächst im „Archiv für Ophthalmologie“ erscheint. Hier beschränke ich mich nur darauf, zu betonen, daß die Anteilnahme der Cornea an der allgemeinen Pneumokokkenimmunität so geringfügig ist, daß zurzeit die quantitative Bestimmung desselben undurchführbar ist.

Immunität gegen den *Bacillus suisepcticus*.

Gebb (22) konnte durch eine Reihe experimenteller Versuche den einwandfreien Beweis erbringen, daß es möglich ist, eine Hornhautinfektion am Kaninchenaugen durch die aktive und passive Immunisierung mit homologem und heterologem Serum therapeutisch zu beeinflussen.

Die besten Resultate erzielte Gebb durch die aktive Immunisierung; gleichfalls günstig waren die Erfolge der passiven Immunisierung mit homologem Serum. Bei der passiven Immunisierung mit heterologem Serum muß man, um einen guten Heilverlauf der Hornhautinfektion zu erzielen, große Dosen des spezifischen Serums intravenös injizieren.

Vaccineimmunität.

Bisher herrschte die Ansicht in der Immunitätsforschung im allgemeinen, daß die Vaccineimmunität eine Sonderstellung einnimmt, d. h. daß die Cornea nicht an der allgemeinen Vaccineimmunität teilnimmt, sondern die Cornealimpfung auch bei Immunisierten positiv ausfällt. Diese Erfahrung (cf. die neueren Experimentalarbeiten von Süpfle) ist zweifellos richtig für das gewöhnliche Verfahren der Immunisierung und die Impfung mit der infizierten Lanzette.

Nun immunisierte Grüter-Greifswald (23) in neuerer Zeit Kaninchen in einer von der üblichen Methode abweichenden Weise durch wiederholte subkutane und intravenöse Injektion von Vaccine, sowie durch flächenhafte Kutanimpfung und prüfte das Verhalten der Cornea gegen eine Infektion mit sehr verdünnter Lymphe. Dies geschah, um auch sehr schwache Grade von Immunität nicht zu übersehen.

In diesen Versuchen machte sich nach Grüters Angaben der Einfluß der allgemeinen Immunität auf die Cornea bemerkbar, indem bei einem Teil der vorbehandelten Tiere überhaupt keine Entzündung am infizierten Auge auftrat und bei den übrigen Tieren die Hornhautentzündung wesentlich milder als bei den Kontrolltieren verlief. Diese Untersuchungen bedürfen noch der Kontrollprüfung. Jedenfalls ist die Anteilnahme der Cornea an dieser Immunität eine äußerst geringe.

Diphtherieimmunität.

Römer (19) hat zunächst festgestellt, daß sich die Cornea an der Diphtherieantitoxin-Immunität beteiligt. Wenn man die Kaninchen mit einer genügenden Menge von Antitoxin subkutan spritzt, so kann man sich sehr leicht davon überzeugen, daß die Antitoxine aus dem Blut zum Teil in die Cornea übergehen. Eine nachträgliche, sogar parenchymatöse Injektion von Diphtherietoxin richtet bei den auf diese Weise immunisierten Tieren keineswegs großen Schaden an.

Ich konnte diesen Satz durch einen Versuch an 4 Kaninchen vollauf bestätigen.

Die Differenz zwischen den Immuntieren und den Kontrolltieren war so in die Augen springend, daß hierüber gar kein Zweifel mehr möglich ist.

Wenn die Anteilnahme der Cornea schon bei den passiv immunisierten Tieren so einleuchtend ist, so ist a priori anzunehmen, daß sich das gleiche bei einem aktiv immunisierten äußerst leicht nachweisen lassen würde, obwohl bis jetzt solche Versuche noch fehlen.

Hämolysinimmunität.

Wie ich vorhin schon erwähnt habe, ist zwar der Beweis für das Uebergehen der Schutzkörper in die entzündete Cornea durch oben genannte Untersuchungen erbracht. Daß dasselbe für die normale Cornea gälte, ist höchst wahrscheinlich, aber muß erst bewiesen werden. Denn bei den Immuntieren, wo die Entwicklung einer typischen Keratitis nach der Impfung ausblieb, war eine mikroskopisch mehr oder weniger nachweisbare Entzündung schon infolge dieses mechanischen Insults, den eine Verletzung der Cornea mit sich bringt, anzunehmen. Um diesem Einwand entgegenzutreten, habe ich einen anderen Weg eingeschlagen.

Ich immunisierte in üblicher Weise eine Anzahl der Kaninchen mit Hammelblut aktiv. 8—10 Tage nach der letzten intraperitonealen Injektion wurden die Tiere durch eine intravenöse Luftinjektion abgetötet. Beide Bulbi werden lebenswarm enukleiert und sofort in den Gefrierapparat „Frigo“ gebracht oder durch eine Kohlensäurebombe zum Frieren gebracht. Dieser eingefrorene Bulbus wurde sorgfältig präpariert und in verschiedene Teile zerteilt, wie Cornea, Glaskörper, Linse usw. Von der Cornea wurde absichtlich stets nur der zentrale Teil zum Versuch gebraucht, indem der Schnitttrand mindestens 2 mm vom Limbus abstand. Denn in dem periphersten Abschnitt der Cornea kann der Umstand günstiger sich gestalten als im zentralen Teil. Nun wurde dieser herausgeschnittene Abschnitt der Cornea in einem Reagenzröhrchen der Extraktion durch eine physiologische Kochsalzlösung gestellt. Das Quantum der letzteren betrug 0,5 ccm pro Cornea. Die Extraktion dauerte gewöhnlich 24 Stunden im Eisschrank. Das vollkommen klare Extrakt wird nun zum Hämolysinversuch angewandt.

Der Glaskörper wurde auch genau so präpariert. Auch kam er in nicht verdünntem Zustande zur Verwendung. Ich führe einige Versuche an.

Versuch (19. I. 10).

0,05 ccm Hammelblut 5 Proz.

0,05 cm Meerschweinchenkomplement 5 Proz.

	Kan. No. 146	Kan. No. 145
Cornealextrakt 0,6 ccm	komplett	komplett
Glaskörper 1,0 ccm	komplett	komplett
0,5 "	"	"
Titer des Blutserums	0,01	0,002

Jedes Röhrchen bis 1,1 ccm mit physiologischer NaCl-Lösung nachgefüllt. Titer des Blutserums bezieht sich immer auf 1 ccm Blut.

Versuch (19. III. 10).

0,05 ccm Hammelbut 5 Proz.

0,05 ccm Meerschweinchenserum 5 Proz.

Jedes Röhrchen bis 1,1 ccm nachgefüllt.

Gewebe	Menge	Kan. No. 195	Menge	Kan. No. 196
Cornea	0,8	komplett	0,4	teilweise
Glaskörper	1,0	komplett	1,0	fast komplett
	0,5	fast komplett	0,5	" "
	0,2	Spur	—	
Titer		0,004		0,01

Versuch (20. IV. 10).

Gewebe	Menge	Kan. No. 206	Kan. No. 207
Cornea	0,5	fast komplett	komplett
Linse	1,0	Spur	negativ
	0,5	Spürchen	
Glaskörper	0,5	fast komplett	mäßig
Retina	0,5		komplett
	0,2		
	0,1		fast "
Kammerwasser	0,2		"
Titer des Blutserums		0,002	0,002

Eine Linse wurde mit 1 ccm NaCl-Lösung extrahiert.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

37

Versuch (28. V. 10).

0,05 Hammelblut 5 Proz.

0,05 Meerschweinchenserum 5 Proz.

Jedes Röhrchen bis 1,1 ccm nachgefüllt.

Gewebe	Menge	Kan. No. 229
Cornea	0,5	mäßig
Linse	1,0	Spur
	0,5	"
Glaskörper	0,5	mäßig
Pigmentflüssigkeit	0,5	negativ
	0,1	"
	0,01	"
Blutserumtiter		0,005

Da der Glaskörper und die Linse oft mit Spur des Retinalpigmentes behaftet sind, werden sie zunächst sorgfältig davon befreit, dann werden die Linsen noch in physiologischer NaCl-Lösung abgeschwenkt. Diese Pigment enthaltende NaCl-Lösung wurden hier gleich zur Kontrolle verwendet, um zu zeigen, daß sie keine hämolytische Kraft besitzt.

Endlich wurden eine Anzahl Corneae von normalen Tieren zur Kontrolle herangezogen. Die wiederholten Versuche zeigten, daß das Extraktum der normalen Cornea kein hämolytisches Vermögen hat.

Somit ist der einwandfreie Beweis erbracht, daß bei den aktiv gegen Hammelblut immunisierten Kaninchen im normalen Zustand der hämolytische Ambozeptor in die Cornea übergeht.

Im Anschluß an diese Versuche wurde das nächste Experiment ausgeführt, um den Umstand bei der passiven Immunisierung zu prüfen.

Kaninchen No. 270 und 271 bekamen am 21. VI. 10. 20 ccm des hämolytischen Kaninchenserums mit einem Titer 0,001 subkutan injiziert. Ein Tier ist nach 24 Stunden, das andere nach 48 Stunden abgetötet worden. 15 Minuten vor der Abtötung wurde 1,0 ccm einer 5-proz. Kochsalzlösung unter die linke Conjunctiva gespritzt. Der Zweck war die Prüfung des Einflusses der subconjunctivalen Kochsalzinjektion auf die Cornea.

Der Versuch wurde analog dem vorigen ausgeführt. Es hat sich nun folgendes herausgestellt:

Kaninchen No. 270	Blutserum	
vor der passiven Immunisierung	0,5	partielle Hämolyse
nach der passiven Immunisierung	0,1	fast komplett
L. Cornea	Spur Hämolyse	
R. Cornea	Spürchen	

Kaninchen No. 271		Blutserum
vor der Immunisierung	0,5	negativ
nach der Immunisierung	0,1	fast komplett
L. Cornea	mäßige Hämolyse	
R. Cornea	Spürchen	

Damit ist bewiesen, daß die passiv dem Organismus zugeführten Hämolysine auch in eine nicht entzündete Cornea übergehen. Zugleich ist die Wirkung einer subconjunctivalen Kochsalzinjektion auf den Saftstrom der Cornea unverkennbar. Während auf der nicht gereizten Seite die Grenze einer Nachweislichkeit der Immunkörper eben erreicht wurde, trat die Hämolyse auf der gereizten Seite viel stärker auf.

Was das quantitative Verhältnis betrifft, so möchte ich Näheres einer weiteren Publikation vorbehalten. Nun läßt es sich schon sagen, daß der Gehalt der Cornea an hämolytischem Ambozeptor mit dem Titer des Blutserums Schritt hält, wie z. B.

Titer des Blutserums	Hämolyse der Cornea
0,1	negativ
0,01	Spur
0,005	mäßig
0,002	fast komplett
0,001	komplett

Eins läßt sich schon sagen, daß bei einem Tier, dessen Blutserum einen Titer von 0,001 aufweist, in 1 ccm Blutserum 1,000 IE.; in 0,3 ccm Kammerwasser 0,3 IE. und in einer Cornea mindestens 0,05 IE. sich findet, denn sie löst 0,05 Hammelblut (5 Proz.) komplett. Desgleichen in 1,0 ccm Glaskörper ca. 0,05 IE.

Der Glaskörper steht somit bezüglich seines Antikörpergehaltes ungefähr 20-fach hinter dem ersten Kammerwasser zurück.

Ueberempfindlichkeit.

Es wurden 4 Kaninchen am rechten Ohr intravenös am 9. VI. mit 2,0 ccm eines steril abgefangenen und 2mal 1 Stunde in 55° inaktivierten Pferdeserums gespritzt, dessen Sterilität auf Platten kontrolliert wurde.

Nach 22 Tagen, am 1. VII., wurde das gleiche Serum in das linke Cornealparenchym injiziert:

Kan. 265	0,01 ccm
„ 266	0,02 „
„ 249	0,05 „

In den folgenden Tagen trat nur beim Kaninchen 249 eine leichte hauchige Trübung der oberen Cornealrandpartie auf, die aber bald ohne erhebliche Entzündung zurückging.

10 Tage später, also 32 Tage nach der ersten Injektion, wurde das Serum nochmals in die linke Cornea gespritzt.

Nur beim Tier 249 trat nach 1 Stunde eine mäßige iritische Reizung auf. Nach 18 Stunden wies die ganze Cornea eine rauchige Trübung auf, die erst nach 2 Wochen allmählich zurückging.

Im Blutserum konnte in dieser Zeit kein Präzipitin nachgewiesen werden.

Ansichts der bekannten Ungleichmäßigkeit der anaphylaktischen Erscheinung glaube ich, hier eine Anteilnahme der Cornea an derselben annehmen zu dürfen.

2. Die lokale Immunität der Cornea.

Immunität gegen Schweinerotlaufbacillen.

Loeffler (21) hat schon im Jahre 1881 entdeckt, daß eine Cornea, die einmal eine typische Keratitis durchgemacht hat, durchaus der weiteren Impfung unzugänglich wurde.

Durch meine Untersuchungen konnte ich diesen Befund vollauf bestätigen.

Kaninchen	Datum	Material	Ort	Erfolg der Impfung
208	26. III.	Blut	l. Cornea	+
	1. IV.	"	r. Cornea	+
	1. VI.	"	l. Cornea	—
209			r. "	—
	1. IV.	Blut	l. Cornea	+
	26. IV.	"	r. "	—
	1. VI.	"	r. Cornea	+(?)
174			l. Cornea	—
	27. I.	Blut	r. "	—
	31. I.	"	l. Cornea	+
	1. IV.	"	r. Cornea	+
149			l. Cornea	—
	22. XII.	Blut	r. "	—
			l. Cornea	+
	17. II.	"	r. "	+
	1. IV.	"	l. Cornea	—
			r. "	—

Pneumokokkenimmunität.

Im allgemeinen gilt das, was wir bei der Immunität gegen Schweinerotlaufbacillen gesehen haben, auch für die Pneumokokkenimmunität, aber in viel beschränkterem Maße als dort. Eine Cornea, die die richtig angegangene Keratitis überstanden hat, kann restistent gegen die zweite Inokulation werden. Aber falls die erste Keratitis etwas leichter verlief, ist es immer noch möglich, daß die zweite schwerere Infektion an der Cornea doch angeht und sogar das Tier schließlich an einer Sepsis zugrunde geht. Es ist auch klinisch, wenn auch nicht häufig, beobachtet, daß an einer Cornea, die soeben oder früher ein richtiges Ulcus serpens überstanden hat, wieder eine Pneumokokkeninfektion angeht. Das ist der Fall bei der sogenannten „Reinfektion“. Dieser Umstand macht sich besonders geltend, wenn die zweite Infektion durch einen anderen Stamm erfolgt. Die Cornea, die eine schwere Keratitis durch den Stamm „Höchst“ überstanden hat, wurde nach einiger Zeit (paar Monate) durch eine zweite Inokulation mit dem Stamm „Bern“ ebenso stark affiziert, wie das Kontrolltier, und die betreffenden Tiere gingen an Sepsis zugrunde.

Bei der lokalen Immunität muß man meines Erachtens zwei Momente auseinanderhalten. Das eine ist die Immunität im eigentlichen Sinn des Wortes, sie ist spezifischer Natur. Das andere ist mehr die Resistenz des Gewebes, die wohl durch den Umbau im lokalen Gewebe zustande kommt, sie kann unter Umständen einer Bakterienwucherung Widerstand leisten oder dem Bakterienwachstum einen unpassenderen Nährboden geben.

Ich konnte diese Annahme tatsächlich experimentell beweisen, indem ich gekreuzterweise einmal eine Cornea, die eine Pneumokokkeninfektion durchmachte, einer Schweinerotlaufinfektion aussetzte. Die Infektion erfolgte ohne jegliches Hindernis und es entstand eine heftige Impfkeratitis, wie bei einem frischen Kontrolltier. Das andere Mal habe ich die Cornea, die gegen Schweinerotlauf immun war, mit dem Pneumococcus infiziert. Hier trat zwar eine Conjunctivitis auf als Zeichen, daß die Infektion überhaupt anging, aber die entzündliche Erscheinung war kaum an der Cornea zu sehen, während sie

an den frischen Kontrolltieren rapid einsetzte. Diese Erscheinung möchte ich mit einer Gewebsresistenz nicht-spezifischer Art erklären.

Hämolysinimmunität.

Um eine Möglichkeit der lokalen Hämolysinimmunität zu prüfen, wurden 2 Kaninchen, No. 253 und 254, am 2. VI. 10 an der linken Cornea mit ca. 0,01 ccm des Hammelvollblutes injiziert. Kaninchen 253 wurde 9 Tage später, am 11. VI., durch eine intravenöse Luftinjektion abgetötet.

Der Versuch ergab, daß

1 Cornea mit 0,5,

1 Linse mit 1,0

NaCl-Lösung extrahiert, L. und R. unterschiedslos ganz negative Hämolyse aufwiesen.

Blutserum desgleichen bis 0,5 ccm.

Deshalb bekam Kaninchen 254 am 22. VI. nochmals eine intracorneale Injektion.

Nach 8 Tagen wurde das Tier abgetötet und der betreffende Versuch wiederholt, der durchaus negativ ausfiel.

Ueberempfindlichkeit.

Es wurden 4 Kaninchen am 9. VI. an der linken Cornea mit einem sterilen Pferdeserum in der Menge von 0,01 ccm injiziert.

22 Tage später, am 1. VII., die zweite intraperitoneale Injektion, und zwar in einer Menge von 0,01—0,02 ccm. Sämtliche Corneae bleiben reizlos.

10 Tage später, am 11. VII., die dritte Injektion, und zwar in einer Dosis von 0,01—0,02—0,05.

Das Tier 259, das 0,02 bekam, wies nach 18 Stunden eine iritische Reizung auf, die noch 3 Tage dauerte.

In neuerer Zeit hat A. Leber (24) über lokale Immunisierung der Cornea Mitteilung gemacht. Leber konnte schon früher gegen Typhus und Cholera durch lokale Applikation unter die Bindehaut aktiv immunisieren, so daß im Glaskörper und endlich im Serum Antikörper nachgewiesen werden konnten. Von demselben Gedanken ausgehend, empfiehlt Leber, durch eine subconjunctivale Injektion rasch die Cornea zu immunisieren. Ähnlich wie mittels der subconjunctivalen Injektion gelingt es, gegen die verschiedensten Stämme von Kokken und Stäbchen durch eine einfache Einträufelung in den Bindehautsack zu immunisieren. Statt Bakterienaufschwemmung sind auch auf die übliche Weise hergestellte Aggressine dazu verwertbar. Vielleicht ergibt sich aus diesen Befunden ein neuer Weg für die Therapie und Prophylaxe.

Lobanow (25) impfte in die Kaninehornhaut unter das Epithel Kulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* von schwacher Virulenz, später wiederholte er die Impfungen und beobachtete niemals eine lokale Immunität. Ein Auge, welches eine Staphylococcuskeratitis vertragen hat, kann wieder erkranken, dabei ist klinisch weder quantitativ noch qualitativ ein Unterschied von der ersten Erkrankung zu bemerken.

3. Die aktive Immunisierung von der Cornea aus.

Es ist eine schon längst bekannte Tatsache, daß die Infektion der Cornea eine allgemeine Infektion des Organismus nach sich ziehen kann. Solche Beobachtungen wurden mitgeteilt von Strauss (26) im Jahre 1892 bei Milzbrand- und Vaccinekeratitis, Rust (27) im Jahre 1892 bei einem Fall von Tetanus bei einer 45-jährigen Frau, Centani und Muzio (28) im Jahre 1898, R. Kraus und Th. Holobut (29) 1909 bei Hundswut, Loeffler im Jahre 1881 bei Mäusesepitiskämiekeratitis. Dasselbe gilt auch für die Pneumokokken. Zu berücksichtigen ist hierbei, daß die Keime durch die Tränenröhrchen und weiter durch die Nasenschleimhaut resorbiert werden, eine akute Lymphdrüsenentzündung hervorbringen, der eine rasche allgemeine Sepsis folgt. Dadurch ist die erste Bedingung zur Immunisierung, die Reizung der antikörperbildenden Stätten durch die Antigene gegeben. Der weitere Vorgang ist nur von der Reaktion seitens des Organismus abhängig. Und tatsächlich berichtete Strauss, daß eine Vaccinekeratitis bei den Kälbern eine allgemeine Immunität herbeiführt, die sich allerdings langsamer als bei der gewöhnlichen Art der kutanen Impfung entwickelt.

Immunität gegen Schweinerotlaufbacillen.

Daß eine Impfkeraitis durch die Schweinerotlaufbacillen eine allgemeine Immunität in einer Woche nach sich zieht, habe ich schon oben erwähnt und konnte dies meinerseits auch vollauf bestätigt werden.

Kaninchen	Datum	Material	Ort	Erfolg der Impfung
208	26. III.	Blut	l. Cornea	+
	1. VI.	do.	r. Ohr	—
209	1. IV.	"	l. Cornea	+
	1. VI.	"	r. Ohr	—
231	1. VI.	"	dgl.	+
232	1. VI.	"	"	+
250	1. VI.	"	"	+

Pneumokokkenimmunität.

Eine vergleichende Studie der Pneumokokkenimmunität mit der Schweinerotlaufbacillenimmunität ergibt manche interessante Verschiedenheiten. Sehr auffallend ist aber der Umstand, daß nach einer durchgemachten Pneumokokkenkeratitis beim Kaninchen keine allgemeine Immunität auftritt. Dafür hat Römer seinerseits beim Menschen den Beweis erbracht, indem er zeigte, daß die Blutsera von Patienten, die einmal Ulcus serpens überstanden haben, keine schützende Kraft für die allgemeine Pneumokokkeninfektion bei den weißen Mäusen entfalten, während die Sera der Pneumonierekonvaleszenten eine unverkennbare Schutzwirkung zeigten.

Ueberempfindlichkeit.

Es wurden am 9. VI. 4 Kaninchen an der linken Cornea mit 0,01 eines sterilen Pferdeserums gespritzt.

22 Tage später, am 1. VII., erfolgte eine intravenöse Injektion von 2,0 ccm desselben Serums, das Vorhandensein eines anaphylaktischen Zustandes zu prüfen. Der Versuch verlief vollkommen negativ.

Daß eine Cornealimpfung mit dem Hammelblut neben meiner Versuchsanordnung keine allgemeine Hämolyseimmunität herbeigeführt hat, habe ich schon im zweiten Abschnitt mitgeteilt.

Schlußbetrachtung.

Axenfeld hat in der British medical Association zu Sheffield 1908 (30) die Ansicht geäußert und am Budapester internationalen medizinischen Kongreß 1909 wiederholt, daß die Immunität der Cornea für die verschiedenen Antigene gesondert studiert werden möge und nicht ohne weiteres ein Ergebnis, das man bei einer Art der Immunität erzielt hat, auf die anderen Arten zu verallgemeinern sei. Das ist auch weiterhin zu beachten; für manche wichtigen Keime sind weitere Untersuchungen erforderlich. Daran aber ist kein Zweifel, daß die Cornea an der allgemeinen Körperimmunität teilnimmt. Und so kann ich mein Ergebnis in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Die Cornea beteiligt sich an der allgemeinen Immunität.

2) Das quantitative Verhältnis ist noch nicht genau festgestellt. Die Anteilnahme ist aber jedenfalls sehr gering und scheint nicht bei allen Antigenarten die gleiche zu sein.

3) Eine lokale Immunität der Cornea ist für manche Antigene erwiesen.

4) Die aktive Immunisierung des Organismus von der Cornea aus ist für einzelne Arten möglich, aber wohl kein geeignetes Immunisierungsverfahren.

Literaturverzeichnis.

- 1) Leber, Kl. Monatsbl. f. Augenh., 1871, p. 365.
- 2) Laqueur, Vorläufige Mitteilung. Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1872, p. 577. (Referat.)
- 3) Adamück, Arbeiten der Ges. d. Aerzte in Kasan, 2, 1872. (Referat.)
- 4) Kisielow, Russ. Inaug.-Diss., Petersburg 1869. Referat in Klin. Monatsbl. f. Augenh., 1873, p. 130—131.
- 5) Lilienfeld, W., Inaug.-Diss. Rostock. Außerordentliche Beilage zu den Klin. Monatsbl. f. Augenh., 1873.
- 6) Leber, Th., Arch. f. Ophth., Bd. 19, Heft 1, p. 191—202. (Ueber die Filtrationsfähigkeit der Hornhaut, p. 125—182.)
- 7) Krückow und Leber, Arch. f. Ophth., Bd. 20, Heft 2, 1874, p. 205—248.
- 8) Denissenko, G., Virchows Arch. f. pathol. Anatomie, Bd. 86, 1881, p. 511. (Referat.)
- 9) Pflüger, Klin. Monatsbl. f. Augenh., 1882, p. 69.
- 10) Denissenko, G., Ebenda, p. 298.
- 11) Schöler und Uhthoff, Jahresbericht über die Wirksamkeit der Augenklinik von Prof. Dr. Schöler im Jahre 1881, Berlin. (Referat.)
- 12) Straub, M., Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Heft 4 u. 5, 1887, p. 179. (Referat.)
- 13) Guttman, G., Bericht des VII. internationalen Ophthalmologen-Kongresses zu Heidelberg, 1888, p. 408. (Referat.)
- 14) v. Recklinghausen, Anat. Anzeiger, 1888, p. 612. (Referat.)
- 15) Gifford, A., Arch. f. Augenh., Bd. 26, 1893, p. 308.
- 16) Gruber, R., Arch. f. Ophth., Bd. 40, Heft 4, 1894, p. 25. (Referat.)
- 17) Leber, Th., Gräfe-Sämisch Handbuch, 2. Aufl., 1903.
- 18) Wessely, K., Ergebnisse der Physiologie, Jahrg. 4, 1905, p. 565.
- 19) Römer, P., Arch. f. Ophth., Bd. 54, 1902, p. 99.
- 20) — Sitzungsbericht d. Physik.-med. Gesellschaft zu Würzburg, 1902.
- 21) Loeffler, Immunitätsfrage. Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1881.
- 22) Gebb, Vortrag auf dem Heidelberger Kongreß 1910.

- 23) Grüter, Vortrag auf dem Heidelberger Kongreß 1910.
- 24) Leber, A., Mitteilung auf dem Heidelberger Kongreß 1910.
- 25) Lobanow, Russk. med. Westnik., Bd. 5, 1903, No. 6. (Referat.)
- 26) Strauss, J., Arch. de méd. expér. et de l'anatomie pathol., 1892, p. 298. (Referat.)
- 27) Rust, Journal of Ophth., Otol. and Laryng., 1892. (Referat.)
- 28) Centani e Muzio, Arch. per le Scienze med., Vol. 22, 1898, No. 15, p. 37. (Referat.)
- 29) Kraus, R., und Holobut, Th., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 3, 1909, Heft 2, p. 130.
- 30) Axenfeld, Th., British med. Assoc. Sheffield, 1908. Ophthalmic Review, 1909, Januar—März.
- 31) Miyashita, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., 1910, Beilageheft.

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der Anaphylaxie.

Von

Prof. B. Turró, und Dr. P. Gonzalez,

Direktor des bakteriolog. Laboratoriums Chemiker am bakteriolog. Laboratorium
der Stadt Barcelona. zu Barcelona.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. März 1911.)

I. Anaphylaxie durch Globuline.

Das Blutserum ist von so komplizierter Zusammensetzung, daß wir bei unseren Studien über Anaphylaxie damit beginnen mußten, zu ermitteln, welche Substanz in ihm hauptsächlich in Betracht kommen könnte. Zu diesem Zwecke haben wir die Sensibilisierung der Meerschweinchen nicht durch Injektion von Serum in refracta dosi vorgenommen, wie es nach den bereits als klassisch zu bezeichnenden Methoden geschieht, sondern durch Einverleibung eines seiner Bestandteile, der Globuline. Zu ihrer Darstellung ließen wir auf 150 ccm Pferdeserum, in 2500 ccm destilliertem Wasser verdünnt, nach vorangegangener Neutralisierung mittelst Essigsäure einen Kohlensäurestrom einwirken. Die auf diesem Wege ausgefällten Globuline wurden mit 6 Liter Wasser ausgewaschen und durch Zentrifugieren und Konzentration in absolut reinem Zustande

hergestellt. Die restierende Flüssigkeit ist ein globulinfreies Serum (A), 15mal in Wasser verdünnt. Meerschweinchen, die mit ihm behandelt werden oder mit isolierten Globulinen, verhalten sich ganz verschieden von den mit Normalserum gespritzten Tieren.

Meerschweinchen von 300–400 g Gewicht wurden durch subkutane Injektion von 1 ccm Globulinen (1:300) überempfindlich gemacht; nach Ablauf von 12 Tagen führten wir eine Einspritzung von Globulinen in die V. jugul. aus; die untere Grenze der tödlichen Dosis beträgt 1 ccm Globuline in isotonischer Kochsalzlösung (1:150). Der anaphylaktische Shock tritt sehr rasch auf, statt der Krämpfe sahen wir das Tier von Lähmungen befallen werden, die in den Hinterläufen beginnen und rasch fortschreiten. Die Asphyxie beendet nach 2 bis 4 Minuten das Krankheitsbild. Die Männchen zeigen reichlichen Samenerguß.

Ein ganz anderes Krankheitsbild boten mit globulinfreiem Serum überempfindlich gemachte Tiere: sie wurden mit 1 ccm A, verdünnt 1:100, vorbehandelt; 12 Tage später erhielten sie eine Injektion von Globulinen in geringster tödlicher Dosis: keines der Tiere zeigte Erscheinungen von Anaphylaxie. Wurde aber die Injektion mit 1 ccm Normalserum ausgeführt, so stellte sich zwar äußerst lebhafte Muskelunruhe ein in Gestalt hoher Sprünge, nach Ablauf von 1–5 Minuten kehrte jedoch der normale Zustand zurück, ohne daß ein Tier eingegangen wäre.

Wir schließen aus diesen an einer Zahl von 10 Meerschweinchen durchgeführten Experimenten, daß der Hauptfaktor bei den Erscheinungen der Serumanaphylaxie den Globulinen zukommt. Allerdings müssen wir zugeben, daß die mit A überempfindlich gemachten Tiere leichte Erregungserscheinungen darbieten nach Einspritzung von Normalserum. Unsere Annahme wird durch die folgende Beobachtung gestützt: Machen wir die Tiere mit 1 ccm Normalserum in der Verdünnung 1:100 überempfindlich und injizieren dann in die Halsvene die niedrigste tödliche Dosis Globuline, so überwiegen gegenüber den eigentlichen Krampferscheinungen bei Serum-anaphylaxie die Lähmungssymptome. Injizieren wir aber vorläufig nur die Hälfte der tödlichen Dosis in das Peritoneum, d. h. 0,75 g der Lösung 1:150, und wiederholen dann die

Einspritzung, so bleiben die Tiere 30 Minuten später für eine tödliche Dosis Normalserum geschützt, denn nur einige von ihnen zeigen leichte Krampferscheinungen.

Folgende Beispiele mögen dies erhellen:

12. IX. 10. 12 Meerschweinchen werden mit 1 ccm A in der Verdünnung 1:100 vorbehandelt. Ihr Gewicht beträgt 290 bis 310 g.

26. IX. 10. 6 Tiere erhalten in die Vena jugularis die tödliche Dosis Globuline injiziert; die Tiere bieten keinerlei Zeichen von Anaphylaxie. Die übrigen 6, mit normalem Serum injiziert, zeigen deutliche Muskeleerregung, die, ohne zum Tode zu führen, nach 3—5 Minuten vorübergeht.

7. IX. 10. 10 Meerschweinchen werden mit 1 ccm Normalserum, in der Verdünnung 1:100, sensibilisiert.

22. IX. 10. 6 Tiere erhalten intraperitoneal 0,75 ccm Globuline (Lösung 1:150). Die Injektion wird wiederholt; es treten keinerlei Zeichen von Anaphylaxie auf. Nach weiteren 30 Minuten erhalten sie eine tödliche Dosis Normalserum: 4 Tiere zeigen jetzt sichtliche Zeichen muskulöser Unruhe, die beiden übrigen bleiben fast unbeeinflusst.

23. IX. 10. 4 der am 7. IX. sensibilisierten Versuchstiere werden mit 1 ccm A gespritzt (Verdünnung 1:100). Sie überstehen sämtlich den Eingriff und bieten nur vorübergehende Symptome von Muskelunruhe.

Auf Grund dieser Versuche kommen wir zu der Annahme, daß das tödliche Gift der Serumanaphylaxie sich im Organismus in Gegenwart der Globuline bildet, sei es, daß man sie isoliert injiziert, sei es mit dem Serum zusammen. Außerdem aber existieren im Serum, unabhängig von den Globulinen, Stoffe, die leichte Anaphylaxie erzeugen, gleich wie die ersteren; jedoch beobachten wir, daß die Erscheinungen von Muskeleerregung ausbleiben, wenn mit Globulinen sensibilisierte Tiere eine Einspritzung von A und normalem Serum erhalten, während sie auftreten, wenn eine Sensibilisierung mit A und Normalserum vorangegangen ist.

II. Beschaffenheit des anaphylaktischen Giftes.

Es beschäftigte uns bei unseren Studien ferner die Frage nach der Beschaffenheit des Giftstoffes, der sich nach Einverleibung von Globulinen so rapide im Organismus bildet, daß Shockwirkungen ausgelöst werden. Zu seiner Darstellung in vitro bedienten wir uns des Verfahrens von Richet. Mit 1 ccm Globulinen in der Verdünnung 1:300 wurden Meerschweinchen überempfindlich gemacht, wie wir oben beschrieben

haben. Das Blut eines der Tiere wurde in einem Gefäß aufgefangen, das 10 ccm Globuline (Verdünnung 1 : 150) enthielt, bei Gegenwart von 0,3 g Na-Citrit, um die Blutgerinnung zu verhindern. Die Mischung von Tierblut und Globulinen ruft augenblicklich eine Giftbildung hervor, die für andere, nicht sensibilisierte Tiere von 400—500 g Gewicht sich tödlich erweist, wenn man 1 ccm in die V. jugul. einspritzt. Im Zeitraum von 2—3 Minuten erliegt das Tier unter Erscheinungen allgemeiner Lähmungen, wie oben geschildert. Der Giftstoff ist leicht oxydierbar, denn bei Luftzufuhr und einer Temperatur von 37° verliert das Gemisch seine toxische Kraft in weniger als 3 Stunden. Bei anderen Temperaturgraden geht die Toxizität allmählich zurück dergestalt, daß nach 20 Stunden erst 2 ccm tödlich wirken. Die Haltbarkeit des Giftstoffes bei Luftabschluß ist wohl eine längere, jedoch noch nicht genau festgestellt.

Mit Rücksicht auf die rasche Wirkung des Anaphylaxie erzeugenden Giftes war es wahrscheinlich, daß es dialysierbar sein würde. In der Tat passierte aus einem Gemisch von Blut und Globulinen, die wir im Vakuum bei einer Temperatur von 1° in ein Kollodiumhäutchen mit 15 ccm Wasser dialysieren ließen, nach 24 Stunden ein Gift, das für Meerschweinchen von 300 g Gewicht, in einer Dosis von 2,5 g in die Halsvene injiziert, tödlich wirkte. Die geringere Giftigkeit des dialysierten Stoffes im Vergleich zum Gemisch erklärt sich aus der eingetretenen Verdünnung und der während der Dialyse erfolgten Oxydation. Läßt man das Gemisch in fließendes Wasser dialysieren, so büßt es seine Giftwirkung in weniger als 24 Stunden ein. Die gleiche Wirkung läßt sich mit der Hirnsubstanz der mit Globulinen sensibilisierten Meerschweinchen erzielen, wenn man sie zu Brei zerrieben mit der Globulinlösung mengt; auch dieses Gift ist dialysierbar, jedoch reicht seine Giftwirkung nicht an die der obengenannten Mischung heran.

Das mittelst Dialyse gewonnene Gift ist, im Dunkeln aufbewahrt, eine Reihe von Tagen beständig, es ist wärmefest, denn Siedetemperatur vermag es nicht zu verändern. Unzweifelhaft handelt es sich um eine kristalloide Substanz. Durch die Hydroxyde und Karbonate der Alkalien wird es aus seinen

Lösungen nicht ausgefällt. In neutraler und alkalischer Lösung bewahrt es lange Zeit hindurch seine toxischen Eigenschaften, fällt durch Alkohol und Aether nicht aus, auch nicht durch deren Mischung zu gleichen Teilen.

Nun hat bekanntlich Ch. Richet das anaphylaktische Gift durch Alkohol ausfällen können, eine Tatsache, die im ersten Augenblick mit den eben mitgeteilten Befunden im Widerspruch zu stehen scheint. Man möge sich aber vor Augen halten, daß der genannte Forscher mit Alkohol die Albumine ausfällt, die den Giftstoff mit sich reißen, wir dagegen behandeln das dialysierte Produkt mit Alkohol, in diesem Zustande fällt aber der Giftstoff nicht mehr aus.

Nachdem wir so die kristalloide Natur des anaphylaktischen Giftes festgestellt hatten, desgleichen seine Löslichkeit in Alkohol und Aether, gingen wir einen Schritt weiter und suchten seine chemischen Eigenschaften zu bestimmen. Es standen uns zu diesem Zwecke zwei verschiedene Methoden zu Gebote, erstens Extraktion des dialysierten Giftstoffes, zweitens Extraktion ohne Dialyse.

Die Extraktion des dialysierten Giftes.

Das Blut des überempfindlich gemachten Tieres wird mit Globulinen gemischt und das Gemenge 24 Stunden lang im Vakuum und bei niedriger Temperatur dialysiert. Die dialysierte Flüssigkeit wird zu Sirupdicke eingedampft und mit 30 ccm Alkohol-Aether $\bar{a}\bar{a}$ behandelt. Eine Reihe Substanzen fallen aus, die durch Filtrieren entfernt werden. Nunmehr wird die Flüssigkeit von neuem eingedampft und nach erfolgter Konzentration wiederum mit Alkohol-Aether behandelt. Es verbleibt dann eine eingedickte und in physiologischer Kochsalzlösung fast unlösliche Masse.

Injiziert man sie einem zweiten Meerschweinchen, so werden die charakteristischen Erscheinungen eines Anfalles nicht tödlicher Anaphylaxie ausgelöst. Wir erklären uns die Gutartigkeit der Phänomene durch die geringe Löslichkeit der Substanz; um die Richtigkeit unserer Erklärung nachweisen zu können, sind wir damit beschäftigt, die toxische Substanz in völlig löslichem Zustande zu gewinnen.

Die Extraktion des nicht dialysierten Giftes.

Nach Bildung des Giftstoffes *in vitro* wird das Meerschweinchenblut 20 Minuten lang zentrifugiert. Die vom Serum getrennten Blutzellen werden

in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen und alsdann mit dem Serum wieder vereinigt. Das Gemisch wird in der Kälte mit Aetheralkohol behandelt, bis zur Ausfällung aller Proteinsubstanzen. Hierauf wäscht man den gewonnenen Niederschlag aufs neue mit Alkohol und schüttelt ihn durch; jetzt wird die gesamte, den Giftstoff gelöst enthaltende Flüssigkeit unter Druck im Wasserbade verdampft, bis sie auf ein Volumen von 3 ccm gebracht ist. Hat man diesen Konzentrationsgrad erreicht, so fügt man von Zeit zu Zeit kleine Mengen Wasser zu bis zur völligen Entfernung des Alkohols.

Bei einem Konzentrationsgrade von 5 ccm spritzt man in einer Dosis von 2 ccm die Flüssigkeit einem Meerschweinchen von 250 g Gewicht in die Halsvene und erzeugt so in einem Zeitraum von 40—60 Sekunden tödliche Anaphylaxie, statt in 2—4 Minuten, wie sie sonst auftritt. Die gleiche Dosis, bei Tieren von 350—400 g Gewicht angewandt, löst heftige Erscheinungen in Form von Krämpfen und Lähmungen aus; sie gehen aber nach einer Minute Dauer vorüber, ohne Folgen zu hinterlassen.

Die durch das beschriebene Verfahren gewonnene toxinhaltige Flüssigkeit ist folgendermaßen charakterisiert: von alkalischer Reaktion wird sie zwar durch HCl nicht zersetzt, jedoch ändern sich dabei die Kristallisationsformen des Rückstandes. Sublimat erzeugt eine Fällung und Ferrocyankalium wird schwach zersetzt. Gerbsäure erzeugt in 24 Stunden einen weißen Niederschlag. Wir haben demnach ein Produkt vor uns, das, durch 100° Hitze unzerstörbar und in Alkohol resp. seinem Gemisch mit Aether löslich, alle Eigenschaften einer organischen Base besitzt; also gehört es zu den Alkalien und ist als Leukomaïn anzusehen.

Hatten wir bisher auf induktivem Wege, wie eben beschrieben, das anaphylaktische Gift als Alkaloid charakterisieren können, so wollten wir zu seiner Darstellung auch dieselben Wege einschlagen, wie sie Armand Gautier im allgemeinen für Darstellung der Ptomaïne benutzt. Wiederum haben wir, wie früher beschrieben, das Blut mit Globulinen sensibilisierter Meerschweinchen zur Herstellung des Giftes benutzt, dann wurde mittelst essigsaurem Blei und eines Stromes von Schwefelwasserstoff ein Niederschlag erzeugt und das Filtrat mit Aethylalkohol behandelt. So konnten wir einen kleinen Rückstand darstellen, der, in die Halsvene

anderer Versuchstiere gespritzt, die gleichen typischen Erscheinungen auslöste, wie wir sie eben geschildert haben.

III. Die mutmaßlichen physiologischen Vorgänge bei der Bildung des anaphylaktischen Giftes.

Endgültig verlassen ist wohl die primitive Vorstellung, daß im Serum ein die anaphylaktischen Phänomene auslösendes Gift enthalten sei (Rosenau und Anderson, Otto, Besredka, Steinhardt); von der großen Anzahl der zu ihrer Erklärung aufgestellten Theorien laufen die Mehrzahl darauf hinaus, die das Tier sensibilisierende Substanz als Antigen anzusehen, das die Bildung von Antikörpern begünstigt. v. Pirquet und Schick sehen zwischen den Vorgängen der Immunisierung und Anaphylaxie keinen anderen Unterschied, als daß der erstere dem Organismus die Fähigkeit verleiht, steigende Toxindosen unwirksam zu machen, während der letztere den Organismus in den Stand setzt, toxische Antikörper hervorzubringen. Wie soll man sich dann aber erklären, daß einmal immunisierende Antikörper sich bilden, ein anderes Mal toxische, die eine entgegengesetzte Wirkung ausüben? Diese Frage, ohne Zweifel der Schlüssel des ganzen Problems, ist von den genannten Autoren nicht weiter untersucht worden.

Dagegen erklären Friedberger, Nicolle, Weil-Hallé, Lemaire und Besredka u. a. die Entstehung des anaphylaktischen Giftes durch gewisse Störungen in der Bildung der Antikörper, Störungen, die freilich ein jeder von ihnen verschieden auffaßt. Noch hat keine der aufgestellten Theorien allgemeine Gültigkeit gefunden, es ist nicht einmal erwiesen, ob die zur Immunisierung und Anaphylaxie führenden Vorgänge gleichartig oder verschieden sind.

Unserer Meinung nach ist das Problem der Anaphylaxie noch in demselben Stadium, wie es seinerzeit Charles Richet kurz nach seiner einschneidenden Entdeckung aufgestellt hat. Führt man dem Organismus einen Stoff albuminoider Natur, sei er toxischer oder ungefährlicher Wirkung, zu (Actino-Congestine, Mytilo-Toxine, Crepitine, Globuline, Hühnereiweiß, Milch etc.) in einer Dosis, die, wenn toxisch,

hinter der tödlichen zurückbleibt, so versetzt er den Organismus in einen Zustand, der das Freiwerden eines Quantum tödlichen Giftes zur Folge hat. Die Bildung des Giftes läßt sich ebensogut in vitro, wie durch Bluttransfusion auf ein zweites Tier erreichen; die Entstehung einer solchen passiven Anaphylaxie beweist uns deutlich, daß das sensibilisierte Tier gewisse hypertoxische Eigenschaften erlangt hat, die es vorher nicht besaß. Ihre Entstehung stellt sich Charles Richet so vor, daß sich im Organismus eine neue Substanz gebildet hat, die er als Toxogenin bezeichnet, und die unwirksam bleibt, solange nicht durch das Vorhandensein der gleichen Substanz, die ihre Entstehung verursachte, ihre chemische Wirksamkeit geweckt wird. Ebenso wie Emulsin und Amygdalin, solange sie getrennt sind, keinen Giftstoff produzieren, und erst, sobald auf dem Wege der Zymase eins auf das andere wirkt, Cyanwasserstoff gebildet wird, so gibt auch die sensibilisierende Substanz erst in Gegenwart des Toxogenins Veranlassung zur Bildung des anaphylaktischen Giftes.

Nachdem wir jedoch nachgewiesen haben, daß das anaphylaktische Gift ein Alkaloid ist, sind wir nicht der Ansicht, daß das Vorhandensein dieser Zwischensubstanz erforderlich sein muß, um den Körper zur Bildung tödlicher Giftmengen anzuregen. Eine hinreichende Erklärung bietet die Annahme einer erhöhten Fähigkeit, durch einfache nutritive Anpassung den Giftstoff zu erzeugen. Für ein solches Anpassungsvermögen bieten sich auch anderwärts manche Analogieen.

In einer seiner letzten Mitteilungen hat Ch. Richet¹⁾ nachgewiesen, daß zur Entstehung der Anaphylaxie die albuminoide Substanz einer anderen Tierspecies gehört, daß aber gleichartige Eiweißstoffe nicht sensibilisieren; es müssen eben ihre Moleküle dem Organismus, dem sie einverleibt werden, fremd sein. Also können sie nur mittelst eines äußerst komplizierten, in seinem Mechanismus uns noch völlig unbekannten Ernährungsvorganges in das lebende Molekül (biogene nach Verworn) aufgehen. Ist dem so, dann vermag man sich auch vorzustellen, daß im Verlaufe dieses Prozesses ein

1) Comptes rendus de la Soc. de Biologie Séance du 2 juillet 1910.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

anormales Freiwerden alkaloider Ketten stattfindet (?) (Danilewski). Die Folge wäre eine Bildung spezifischer Leukomaine, immer entsprechend der chemischen Beschaffenheit der fremden Substanz, die assimiliert werden muß. Die geringe, im Entstehen begriffene Giftmenge wird zerstört oder ausgestoßen, ohne nennenswerte toxische Wirkungen auf den Organismus auszuüben.

Dessen ungeachtet wird in einem solchen Körper mittelst Vorgängen, die den zur Bildung immunisierender Antikörper führenden gleichartig sind, ein Zustand geschaffen, den wir als „drohend hypertoxisch“ bezeichnen möchten, infolge reichlicher Bildung alkaloider Ketten. Die Gegenwart neuer fremder Proteine würde von da ab ein Auftreten von Giftstoffen zur Folge haben, das hinreichend wäre, den anaphylaktischen Shok auszulösen. In Wirklichkeit liegt zwischen dem Zeitpunkt der Sensibilisierung, welche den drohend hypertoxischen Zustand erzeugt und der shockauslösenden Dosis kein größeres Zeitintervall, als das durch die Giftmenge abmeßbare, die in einer gegebenen Zeiteinheit gebildet wird. So kommt es, daß der Organismus, der sensibilisiert wird, zu einem Organismus wird, der jetzt der Autointoxikation anheimfällt, in dem Bestreben, sich durch Fortschaffen oder Zerstörung des Giftstoffes sich von der Autointoxikation zu befreien. Seine Verteidigung wird ihm aber unmöglich gemacht, wenn allzu große Giftquanten sich bilden, die rasch auf das Nervensystem einwirken.

Erschweren wir die Diffusion des Giftstoffes, sei es durch Alkohol, sei es durch Anästhesie, die beide, wie Overton für die Lipoidsubstanzen nachgewiesen hat, die Diffusionskraft verändern, so sollte die sonst rasch eintretende tödliche Wirkung auf die Nervenzellen verzögert werden; es müßte der anaphylaktische Shock nicht eintreten, weil der Organismus Zeit gewinnt, das Gift zu zerstören. Nicht etwa weil, wie Besredka sagt, die Bildung der Toxine im Innern der Zelle durch Alkohol und Anaesthetica gehindert wird, sondern weil sie die Diffusion der Toxine hemmen, müßte demnach die Nervenzelle vor dem anaphylaktischen Shock bewahrt bleiben.

Nach unseren Versuchen mit Cocain und Morphin, die wir bei einer großen Zahl von Meerschweinchen und in erheblichen Dosen in die Rückenmarkshäute und intrakraniell einführten, konnten wir uns nicht davon überzeugen, daß hierdurch die anaphylaktische Intoxikation aufgehalten wird. Auch Stovain ergab das gleiche negative Resultat: es erfolgte die Bildung des Giftstoffes stets in gleicher Weise und mit gleich tödlichem Effekt

Begreiflich ist es, daß, wenn die Anaphylaxie in ihren Grundlagen auf gesteigerter Einwirkung der alkaloiden Ketten auf das biogene Molekül beruht bis zur Erzeugung des hypertoxischen Zustandes, der Anpassungsprozeß bis zu einem gewissen Grade von der Dosis unabhängig sein kann, weil einzig und allein die fremden, wirklich im Kampf mit dem biogenen Molekül stehenden Moleküle entscheidend sind, unabhängig von den ruhenden im Körperinnern. So wird die Sensibilisierung durch Teildosen des Serums erklärlich oder wenigstens begreiflich. Zwar muß es auf den ersten Blick überraschen, daß eine kleine Dosis fremden Eiweißes schneller sensibilisieren soll, als eine große; vergegenwärtigt man sich aber, daß die Anaphylaxie abhängig ist von der Bildung spezifischer alkaloider Gruppen im lebenden Molekül, so wird es verständlich, daß der eigentliche Schlüssel zum Phänomen in dieser Anpassung der Ernährungsvorgänge beruht oder in der Bildung solcher Gruppen. Alles übrige kommt erst in zweiter Linie in Betracht, so auch das völlige Verschwinden des Antigens, oder auch der Substanz, die diesen Zustand erzeugt.

Die Sensibilisierung in refracta dosi kann durch die eben geschilderten physiologischen Vorgänge einen Zustand hypertoxischer Erregbarkeit erzeugen, nachdem durch chemische Umbildung oder Ausscheidung jede Spur des Antigens entfernt ist. Es ist nachgewiesen, daß dieser Zustand eine Reihe von Jahren dauern kann, ja sich wahrscheinlich weiter vererbt. Alle Theorien, welche die Bildung der anaphylaktischen Toxine durch Vermittlung einer mysteriösen intermediären Substanz erklären wollen, lassen unerklärt, weshalb diese Substanz so lange Jahre bestehen bleibt, noch weniger verständlich ist, wie sie sich erblich übertrage, ist es doch auch für die

immunisierenden Antikörper nachgewiesen, daß sie sich nicht in der Gattung fortpflanzen. Fassen wir den physiologischen Vorgang der Anaphylaxie einfach als Anpassung im Ernährungsprozesse auf, so erklärt sich zwanglos, daß der Zustand hyper-toxischer Erregung besteht, solange die alkaloiden Ketten bestehen bleiben. Durch zahlreiche Versuche ist nachgewiesen, daß die alkaloiden Gruppierungen recht unbeständig sind, derart, daß schon intravenöse oder cerebrale Injektion einer unter der tödlichen bleibenden Dosis des Giftstoffes genügt, um dem Tiere seine Sensibilisierung zu nehmen und den Effekt einer tödlichen Dosis zu erzielen.

Zusammenfassung.

Resumieren wir noch einmal, daß zur Erklärung der Bildung anaphylaktischer Toxine die Annahme einer intermediären Substanz eine wissenschaftlich unnötige Hypothese darstellt. So wie wir jetzt nach dem Vorgange Pflügers den Mechanismus der Ernährung auffassen, scheint uns eine grundsätzliche physiologische Uebereinstimmung zwischen der Art, wie nach unserer Meinung die Bildung immunisierender Antikörper vor sich geht und der Entstehung des anaphylaktischen Giftes vorhanden zu sein. Sicherlich sind, nach ihren Ergebnissen beurteilt, die Phänome von Immunität und Anaphylaxie ganz verschieden. Sehen wir aber von den teleologischen Merkmalen ab und prüfen wir beide Phänomene nicht nach ihrem nutzbringenden Effekt, sondern von genetischen Gesichtspunkten aus, so lassen sich beide durch die gleichen Theorien erklären, welche Ehrlich für die Bildung immunisierender Antikörper aufgestellt hat.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

XVI. Mitteilung.

Die Anaphylatoxinbildungen aus Eiweiß im Reagenzglas durch normale Sera.

Von **E. Friedberger** und **E. Nathan**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. März 1911.)

Es gelingt bekanntlich, wie der eine von uns gezeigt hat ¹⁾,
aus koaguliertem Eiweiß im Reagenzglas ohne Zusatz von
Immunserum durch die einfache Einwirkung von Normal-
meerschweinchenserum Anaphylatoxin abzuspalten.

Zu ganz analogen Resultaten führten die von Fried-
berger ²⁾ mitgeteilten Versuche (siehe auch die XII.—XV.
Mitteilung über Anaphylaxie, voriges Heft dieser Zeitschrift)
über die Giftabspaltung aus den verschiedensten Bakterien-
arten durch normales Meerschweinchenserum, Versuche, die
durch Neufeld und Dold ³⁾ eine Bestätigung erfuhren. Die
auffallend geringen Mengen von Bakterien, die dabei zur Ab-
spaltung einer tödlichen Giftdosis unter dem bloßen Einfluß
von Normalmeerschweinchenserum ausreichen, veranlaßten uns,
die Versuche auch mit Eiweiß wieder aufzunehmen, um durch
genauere quantitative Studien zu ermitteln, ob auch hier ähn-
liche Bedingungen für die Anaphylatoxinbildung vorliegen. Es
erschien uns das mit Rücksicht auf unsere theoretischen Vorstel-
lungen über die Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas wichtig.
Wir verwendeten zunächst als Antigen normales Pferdeserum,

1) Ueber Anaphylaxie. X. Mitteilung. Diese Zeitschr., Bd. 8, Heft 1/2.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32, 42; Münch. med. Wochenschr.,
1910, No. 50/51.

3) Ibid., 1911, No. 2.

eine halbe Stunde lang bei 56—60° inaktiviert, und ließen darauf normales Meerschweinchenserum von Tieren bis etwa zu 500 g Körpergewicht einwirken. In jeder Versuchsreihe ist ein und dieselbe Komplementmischung benutzt. Die Prüfung der „Abgüsse“ auf ihre Giftigkeit geschah an Meerschweinchen von 150—200 g Körpergewicht durch intravenöse Injektion.

Die injizierten Abgußdosen betrugen 4,0 bis höchstens 4,5 ccm, aber nie mehr, auch nicht in den Fällen, in denen zur Giftabspaltung selbst größere Dosen von Meerschweinchenserum verwendet worden waren. In unseren früheren Versuchen über die Giftabspaltung aus Eiweiß hatten wir mit gekochtem oder zum wenigsten koaguliertem Antigen gearbeitet, um die Möglichkeit zu haben, durch Zentrifugieren das Antigen wieder beseitigen zu können, wie wir ja auch die Präzipitate, die Muttersubstanzen unseres Anaphylatoxins, bei den früheren Versuchen mit Immunsrum stets vor der Injektion durch Zentrifugieren entfernten. Bei zelligen Elementen, wie bei den Blutkörperchen, Bakterien, Protozoen, bestehen ja in dieser Beziehung a priori überhaupt keine Schwierigkeiten, wenn man, wie wir es getan haben, stets mit den intakten Zellen und nie mit Extrakten arbeitet.

In unseren jetzigen Versuchen haben wir dagegen nur bei 56° inaktiviertes, nicht zugleich auch koaguliertes Antigen benutzt, und dieses dementsprechend nicht vorher durch Zentrifugieren aus der Flüssigkeit wieder entfernen können. Das ist jedoch in den nachstehenden Versuchen ohne Belang, da wir mit dem ja für das Meerschweinchen völlig atoxischen Pferdeserum arbeiteten, von dem die Tiere pro 100 g Körpergewicht mehr als 4 ccm vertragen. Auch war die Gegenwart des Pferdeserums bei unseren Versuchen um so unbedenklicher, als sich sehr bald herausstellte, daß die zur Giftabspaltung nötigen Mengen fast 10000mal geringer waren als die Maximaldosen, die ein Meerschweinchen unbedenklich verträgt.

Im nachstehenden (s. Tabelle Ia, Ib, Ic) bringen wir einige Versuchsreihen, in denen konstante Mengen von Normalmeerschweinchenserum (4,0) mit wechselnden Mengen von inaktiviertem Normalpferdeserum verschieden lange Zeit in Kontakt waren und dann normalen Meerschweinchen intravenös eingespritzt wurden.

Tabelle I a.

Pferde- serum	Kom- plement	Zeit	Tier No.	Ge- wicht	Resultat
0,1	4,0	3 ^h	N 254	200 g	keine Symptome. Nachts gestorben
0,01	4,0	3 ^h	N 255	200 "	"
0,001	4,0	3 ^h	N 256	200 "	undeutl. Symptome. Nachts gestorben
0,0005	4,0	3 ^h	N 257	200 "	"
0,0001	4,0	3 ^h	N 258	200 "	keine Symptome " "

Tabelle I b.

Pferde- serum	Kom- plement	Zeit	Tier No.	Ge- wicht	Resultat
0,1	4,0	13 ^{1/2} ^h	N 259	180 g	leichte Sprünge. Tot nach 3 ^h
0,01	4,0	13 ^{1/2} ^h	N 260	180 "	ganz leichte Sprünge
0,001	4,0	13 ^{1/2} ^h	N 263	190 "	leichte Sprünge
0,0005	4,0	13 ^{1/2} ^h	N 264	190 "	keine Symptome
0,0001	4,0	13 ^{1/2} ^h	N 265	200 "	" "

Tabelle I c.

Pferde- serum	Kom- plement	Zeit	Tier No.	Ge- wicht	Resultat
0,5	4,0	24 ^h	N 270	190 g	keine Symptome
0,1	4,0	24 ^h	N 271	190 "	" "
0,01	4,0	24 ^h	N 269	180 "	" "
0,001	4,0	24 ^h	N 272	190 "	schwerste anaphylaktische Krämpfe. Tot in 4'
0,0005	4,0	24 ^h	N 273	190 "	Sprünge, nach 2' erholt

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß nach 3 Stunden eine Abspaltung von akut krankmachendem oder tödlichen Gift überhaupt noch nicht nachweisbar ist, wenn auch die Tiere innerhalb von 24 Stunden starben. Nach 13^{1/2} Stunden ist eben eine geringe akute Giftwirkung zu konstatieren, und erst nach 24 Stunden werden tödliche Giftdosen innerhalb der gewählten Versuchsanordnung erzielt. Dabei ergibt es sich nun, daß die letalen Dosen nicht etwa aus den größeren, sondern auch hier wieder nur aus mittleren Antigendosen abgespalten werden, in ganz analoger Weise, wie wir das bei der Anaphylatoxinbildung unter dem Einfluß von Immunserum und bei Bakterien auch unter dem Einfluß von Normalserum bereits kennen gelernt haben.

In dem folgenden Versuch (s. Tabelle II) waren wir bestrebt, die Komplementmengen zu ermitteln, die gerade innerhalb von 24 Stunden eine tödliche Giftdosis lieferten.

Tabelle II.

Pferdeserum	Komplement	Zeit	Tier No.	Gewicht	Resultat
0,01	4,0	24 ^h	N 283	200 g	leichte Sprünge, Dyspnoe. Nachts gestorb.
0,01	6,0 ¹⁾	24 ^h	N 282	200 „	schwere Anaphylaxie. Tot in 7'
0,001	3,0	24 ^h	N 284	200 „	unbestimmte Symptome
0,001	4,0	24 ^h	N 281	200 „	„
0,001	4,0	21 ^h	N 308	190 „	„
0,001	6,0 ¹⁾	21 ^h	N 307	180 „	schwere Anaphylaxie. Tot in 9'
0,001	8,0 ¹⁾	21 ^h	N 309	200 „	„ „ 14'
0,0005	3,0	24 ^h	N 285	180 „	undeutliche Symptome
0,0005	4,0	24 ^h	N 286	190 „	keine Symptome

Der Versuch schien dafür zu sprechen, daß unter Verwendung größerer Komplementserummengen die Giftausbeute eine reichere ist. Wir haben deshalb in den nachstehenden Versuchen stets mit 6,0 ccm Normalmeerschweinchenserum gearbeitet, aber zur Injektion, wie gesagt, niemals mehr als 4,5 benutzt.

In vollkommener Uebereinstimmung mit der vorhergehenden Versuchsreihe zeigt nun bei Verwendung von 6,0 Komplement die nachstehende Tabelle III wiederum, daß Ueberschüsse und zu kleine Mengen von Antigen kein Gift ergeben.

Tabelle III.

Pferdeserum	Komplement	Zeit	Tier No.	Gewicht	Resultat
1,0	6,0	18 ^h	N 287	170 g	unbestimmte Symptome
0,1	6,0	18 ^h	N 288	170 „	undeutliche Symptome
0,01	6,0	18 ^h	N 289	150 „	schwerste Anaphylaxie. Tot in 4'
0,001	6,0	18 ^h	N 290	150 „	„ „ 4'
0,0005	6,0	18 ^h	N 291	160 „	„ „ 4'
0,0001	6,0	18 ^h	N 292	150 „	keine Symptome

Ähnlich dem vorigen verlief auch der folgende Versuch (Tabelle IV).

1) Injektionsdosis nicht mehr als 4,5 ccm.

Tabelle IV.

Pferde- serum	Kom- plement	Zeit	Tier No.	Ge- wicht	Resultat
0,1	6,0	24 ^h	N 293	180 g	schwerste Anaphyl. Tot in 9'
0,01	6,0	24 ^h	N 294	200 „	Tot in 10'
0,001	6,0	24 ^h	N 295	200 „	„ „ Tot in 9'
0,0005	6,0	24 ^h	N 296	210 „	unbestimmte Symptome
0,0001	6,0	24 ^h	N 297	210 „	keine Symptome

Die Bedingungen für die Giftabspaltung ohne Immunserum sind natürlich weitgehend abhängig von der Beschaffenheit des jeweils verwandten Meerschweinchenserums, dessen Gehalt an Komplement und Normalantikörpern bekanntlich nicht unerheblichen Schwankungen unterliegt. (Innerhalb ein und derselben Versuchsreihe wurde aber natürlich stets dasselbe Mischserum benutzt.) Diese Differenzen treten besonders deutlich hervor in unseren Zeitversuchen. In einer Serie hat z. B. bereits nach 3½ Stunden das Meerschweinchenserum eine tödliche Dosis Gift aus dem Pferdeserum frei gemacht, meist aber dauerte es 12—24 Stunden.

Die in den vorstehenden Versuchen erwiesene Möglichkeit einer bequemen Anaphylatoxinabspaltung aus normalem Eiweiß unter dem Einfluß von Normalserum gab uns nun die Möglichkeit, zu untersuchen, ob sich auch bei Verwendung des arteigenen Eiweißes als Antigen eine Giftabspaltung erzielen läßt. Bei Verwendung von Immunserum zur Giftabspaltung konnten derartige Versuche niemals ein einwandfreies Resultat ergeben. Wir hätten dann, wenn wir z. B. normales Meerschweinchenserum als Antigen und Anti-meerschweinchenserum als Immunserum zur Präzipitat-erzeugung benutzt hätten, stets mit der Möglichkeit zu rechnen gehabt, daß gegen das Meerschweinchenserum gerichtete Antikörper vom Präzipitat abgespalten würden und durch ihre primäre Giftwirkung den Shock auslösten.

Die Versuche zur Entscheidung der Frage, ob sich aus dem Meerschweinchenserum als Antigen ein für die gleiche Art akut tödliches Anaphylatoxin gewinnen läßt, stellten gewissermaßen eine Umkehrung der im ersten Teil dieser Arbeit mitgeteilten Versuche dar. Wir benutzten als Antigen inakti-

viertes normales Meerschweinchenserum, und ließen die Giftabspaltung nicht durch normales Meerschweinchenserum, sondern nun durch normales Pferdeserum erfolgen.

Obwohl wir dabei nicht unbeträchtliche Mengen eines artfremden Serums den Tieren einspritzen mußten, so erscheinen uns diese Versuche gleichwohl einwandfrei, weil es sich erstens um das ungiftige Pferdeserum handelte und zweitens aus den zahlreichen Kontrollversuchen es sich ergab, daß die von uns verwandten Dosen der betreffenden Sera an sich nicht toxisch wirkten.

Dafür spricht auch der Umstand, daß bei Verwendung eines und desselben Pferdeserums in den einzelnen Versuchsreihen unter sonst ganz identischen Bedingungen eine Giftabspaltung wiederum nur aus bestimmten optimalen Dosen des Meerschweinchenserums erfolgte.

Die Versuche wurden unter Variierung der Antigenmengen (Normalmeerschweinchenserum) und der zur Giftabspaltung benutzten normalen Pferdeserummengen unternommen.

Die nachstehenden 3 Tabellen zeigen, daß auch aus normalem Meerschweinchenserum sich ein für die artgleiche Species hochtoxisches Anaphylatoxin gewinnen läßt (siehe Tabelle Va, b, c).

Man ersieht dabei zugleich die optimalen Verhältnisse für die Giftabspaltung.

Tabelle Va.

Meersch.-Serum	Pferdeserum	Zeit	Tier No.	Gewicht	Resultat
0,1	8,0 ¹⁾	24 ^h	N 304	200 g	schwere Anaphyl. Tot in 9'
0,01	8,0	24 ^h	N 305	190 „	keine Symptome
0,001	8,0	24 ^h	N 303	200 „	„ „

Tabelle Vb.

Meersch.-Serum	Pferdeserum	Zeit	Tier No.	Gewicht	Resultat
0,25	8,0	18 ^h	N 311	190 g	keine Symptome
0,125	8,0	18 ^h	N 310	180 „	schwere Anaphyl. Tot in 7'
0,0125	8,0	18 ^h	N 312	180 „	unbestimmte Symptome

1) Injektionsdosis überall 4,5 ccm.

Tabelle Vc.

Meer- schw.- serum	Pferde- serum	Zeit	Tier No.	Ge- wicht	Resultat
0,125	4	18 ^a	N 314	200 g	keine Symptome
0,125	6	18 ^a	N 313	180 „	schwere anaphylakt. Sprünge und Krämpfe. Erholt nach 20'
0,125	8	18 ^a	N 310	180 „	schwere Anaphyl. Tot in 7'.

Aus allen unseren Versuchen ergibt sich, daß die Giftabspaltung hier, wie ja zu erwarten war, analogen Gesetzmäßigkeiten unterliegt, wie wir sie bei der Giftbildung durch normales Serum aus Bakterien und bei der Giftbildung aus Bakterien und Eiweiß unter der Einwirkung von Immunserum gesehen haben. Aber höchst auffallend und unerwartet ist die Tatsache, daß im Reagenzglas eine tödliche Giftmenge schon aus 1 mg eines Eiweißkörpers sich gewinnen läßt, von dem fast das 10000-fache vom Normaltier vertragen wird.

Hier wird in vitro eine Wirkung erzielt, mindestens ebenso intensiv, ja noch viel intensiver, wie sie in vivo nur beim präparierten Tier zu beobachten ist. Es bestehen also scheinbar Differenzen prinzipieller Natur, und doch sind auch hier die Versuchsergebnisse einer Betrachtung zugänglich, die uns zu einer einheitlichen und übereinstimmenden Auffassung führt.

Man kann sich die Verhältnisse vielleicht wie folgt vorstellen: Wenn wir einem normalen Tier derartig kleine Mengen artfremden Eiweißes einspritzen, so wird offenbar unter den günstigen Verhältnissen im Tierkörper das eingespritzte Eiweiß relativ leicht bis zu ungiftigen Produkten abgebaut, ohne daß doch der Abbau in dem Tempo erfolgt, daß es auf einmal zur Anhäufung einer tödlichen oder krankmachenden Menge Gift kommt. Im Reagenzglas dagegen, in dem sich natürlich der ganze Prozeß des Eiweißabbaues viel langsamer und unter ungünstigeren Verhältnissen vollzieht, kommen wir über dieses erste Stadium, das der Giftbildung, innerhalb der von uns gewählten Bedingungen nicht hinaus.

Um beim normalen Tier, bei dem wir ja eine fortwährende Neubildung und einen fortwährenden Zustrom von Antikörpern haben im Gegensatz zu den statischen Verhältnissen im Reagenzglas, die Verhältnisse so zu gestalten, daß, unbeschadet des weiteren Abbaues über die Giftstufe hinaus eine tödliche

Giftosis sich ansammeln kann, bedürfen wir weit größerer Mengen von Antigen; vielleicht wird überhaupt erst dann eine toxische Dosis erzielt, wenn die Antikörper von soviel Antigen beansprucht werden, daß der Abbau über das Gift hinaus gar nicht mehr oder nur unvollkommen erfolgt. Das sind Antigen-dosen, die für die geringen Mengen des im Reagenzglas vorhandenen Normalantikörperkomplementkomplexes viel zu groß sind.

Beim Immuntier dagegen mit der exzessiven Steigerung der Antikörper wird innerhalb der üblichen quantitativen Verhältnisse sich der Abbau rapide genug vollziehen, daß eine tödliche Menge toxischer Produkte auf einmal sich anhäufen kann, auch wenn im übrigen die Bedingungen für einen weitgehenden Abbau gegeben sind.

Bei Gegenwart eines Ueberschusses von Immunsrum liegen dann die Verhältnisse im Reagenzglas wieder anders. Die intermediär sich bildende toxische Dosis tritt ja nicht in Aktion, und wir verstehen, daß zu einer gewissen (späteren) Zeit bei der Injektion dann ein unter Verwendung eines Ueberschusses von Immunsrum erzeugter Abguß ungiftig wirkt.

Wir sind uns des Hypothetischen dieser Erklärung vollkommen bewußt, glauben aber, daß auf Grund unserer gegenwärtigen Kenntnisse über die Anaphylaxie diese Deutung am nächsten liegt.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über die Abspaltung des Anaphylatoxins im Reagenzglas aus Eiweiß unter der einfachen Einwirkung von Normalseris¹⁾. Die quantitativen Bedingungen werden dabei ermittelt. Es wird gezeigt, daß sich schon durch Mischen von 1 mg Pferdeserum (56%) mit Normalmeerschweinchenserum eine akut tödliche Giftosis gewinnen läßt.

Sogar bei Verwendung des artgleichen Serums als Antigen gelingt die Giftabsplattung.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Ueber die Deutung, die sich auf Grund dieser Versuche für die Experimente von M. Wassermann und Keysser ergibt, vergl. den Nachtrag zu der Einleitung für die XII.—XV. Mitteilung über Anaphylaxie (voriges Heft dieser Zeitschrift).

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

XVII. Mitteilung.

Die Bedeutung sessiler Rezeptoren für die Anaphylaxie¹⁾.

Von

E. Friedberger und Dr. S. Girgolaff,
Stabsarzt an der K. Militärmed.
Akademie St. Petersburg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. März 1911.)

Seit den Untersuchungen von R. Pfeiffer und Marx, Wassermann, Deutsch u. a. wissen wir, daß die Antikörperproduktion bei der künstlichen Immunisierung und in gleicher Weise wohl auch im wesentlichen bei dem natürlichen Ueberstehen einer Krankheit vorwiegend in dem hämatopoetischen Organen, also in Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen erfolgt. Von hier werden, wie R. Pfeiffer gezeigt hat, die Antikörper ins Blut sezerniert.

Daneben findet freilich, wie uns vor allem die Untersuchungen von v. Dungern über Antikörperbildung in der vorderen Augenkammer und die Untersuchungen von Wassermann und seinen Schülern gelehrt haben, eine lokale Antikörperproduktion statt an dem Ort, an den wir das betreffende Antigen gebracht haben. Ja, wir dürfen vielleicht annehmen, daß, wenn auch die hämatopoetischen Organe die vorzüglichste Bildungsstätte darstellen, so doch mehr oder weniger auf den Reiz der Antigenezufuhr, soweit nur die Antigenteile mit ihnen in Berührung kommen, fast alle Organzellen mit einer Sekretion der Antikörper antworten.

1) Die Resultate sind kurz vorgetragen in der Diskussionssitzung des Vereins für innere Medizin, Berlin, am 23. Januar (Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 9).

Um vor allem die Frage zu entscheiden, ob tatsächlich bei der intravenösen Vorbehandlung eines Tieres neben Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen noch andere Organe wesentlich für die Antikörperproduktion in Betracht kommen, verfahren wir so, daß wir neben der Milz auch andere Organe, z. B. die Niere, zu einer Zeit, zu der wir die regste Antikörperproduktion erwarten durften, exstirpierten und Stücke der betreffenden Organe bei normalen Meerschweinchen in der Bauchhöhle zur Einheilung brachten.

Wir gingen dabei von der Voraussetzung aus, daß nach vollzogener Einheilung die Zellen der implantierten, vom immunisierten Tier stammenden Gewebestücke eine weitere Sekretion der betreffenden Antikörper veranlaßten. Im einzelnen gestaltete sich unsere Technik folgendermaßen:

Es wurden mit Bakterien oder mit artfremdem Serum immunisierte Kaninchen und Meerschweinchen, sobald sie reichlich Antikörper in ihrem Blutserum zeigten, entblutet. Dann wurde eine Kanüle in die Aorta eingelegt und nachdem ein Einschnitt in die V. cava gemacht war, wurden die Tiere solange mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült, bis, so weit wie möglich, alles Blut aus dem Körper entfernt war. Das geschah deshalb, um eine passive Uebertragung der Antikörper und auch von noch vorhandenen Antigenresten durch Blutreste in dem betreffenden Organstück auf das zweite Tier zu vermeiden. Denn es lag uns ja ausdrücklich nur daran, zu konstatieren, ob das eingeheilte Organ bzw. dessen Zellen weiter Sekretion von Antikörpern vollziehe.

Wir untersuchten zunächst, wie sich die Agglutinine bei Kaninchen verhielten, denen Organstücke mit Metschnikoff-Bacillus und Prodigiosus immunisierter Tiere eingeheilt worden waren. Die Antikörper im Blutserum des so behandelten Tieres waren frühestens nach 7 Tagen nachweisbar und erreichten das Maximum etwa am 14.—18. Tag¹⁾. Das relativ späte Auftreten der Antikörper spricht schon dagegen, daß es sich hier um eine passive Uebertragung etwa durch noch in den Organen befindliche Serumreste handeln könnte. Die Mengen, die zur Vorbehandlung verwandt werden, und die Zeiten

1) Ueber diese Versuche wird S. Girgolaff später noch ausführlich berichten.

bis zur Organentnahme lassen es ausgeschlossen erscheinen, daß eine aktive Immunisierung durch Antigenreste erfolgt.

Bei der Implantation von Milzstücken wurde stets eine höhere Antikörperproduktion erzielt, als bei solchen Tieren, denen Nierenstücke implantiert worden waren. Das steht in Einklang mit den erwähnten Befunden R. Pfeiffers; es zeigt aber zugleich, daß auch andere Organe immunisierter Tiere befähigt sind, Antikörper zu sezernieren.

Bei Implantation von Organen mit Eiweiß immunisierter Tiere gelang uns der Nachweis von Präzipitinen im Serum der so behandelten Individuen nicht. Daß aber auch Antieißkörper von den Zellen der implantierten Organstücke weiter gebildet und in den Kreislauf abgestoßen werden, ergab sich daraus, daß die Organempfänger gegen dasjenige Eiweiß überempfindlich geworden waren, das zur Vorbehandlung des Organspenders gedient hatte.

Im nachstehenden folgen einige hierher gehörige Versuchsprotokolle.

Versuch No. 1.

Meerschweinchen, 200 g, erhält 1,0 Hammelserum intravenös.

Nach 14 Tagen wird das Tier entblutet, mit physiologischer Kochsalzlösung in der oben angegebenen Weise durchspült. 2 Milzstücke, etwa die Hälfte des ganzen Organs, werden in die Bauchhöhle eines normalen Meerschweinchens etwa von gleichem Gewicht wie das Muttertier implantiert.

14 Tage später erhält dieses Meerschweinchen bei einem Körpergewicht von 250 g 1,5 Hammelserum intravenös (0,6 pro 100 g Tier).

3⁵⁵ Injektion in die Jugularvene, das Tier ist sofort unruhig.

4 Krämpfe und Sprünge, starke Dyspnoe.

4² Erneute Krämpfe, das Tier legt sich auf die Seite, hat heftige Krämpfe.

4⁵ Reflexe erloschen, Atmung agonal.

4⁸ tot.

Obduktion: Lunge maximal gebläht, Herz schlägt noch, Blut im rechten Herzen nach 10 Minuten noch ungeronnen.

Bei der Sektion der Bauchhöhle ergab es sich, daß die beiden Milzstücke reaktionslos eingeheilt waren. In analoger Weise verliefen eine ganze Reihe derartiger Versuche.

Im nachstehenden sei noch kurz das Protokoll eines Versuches gebracht, bei dem unter den gleichen Bedingungen anstatt Milzgewebe Nierengewebe implantiert worden war.

Versuch No. 2.

Meerschweinchen, 250 g, erhält 1,5 Hammelserum intravenös.

Nach 14 Tagen wird das Muttertier entblutet, mit Kochsalzlösung durchspült und zwei Stück Niere (etwa $\frac{1}{3}$ des Organs) einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle implantiert.

Nach 14 Tagen erhält dieses Meerschweinchen, 280 g schwer, 2,0 Hammelserum (0,7 pro 100 g) intravenös.

3⁴⁸ Injektion.

3⁴⁶ schwere Krämpfe, springt, schwere Dyspnoe.

4^b Reflexe erloschen.

4¹ tot.

Obduktion: Lunge, Herz, Verhalten des Blutes wie oben.

Die Sektion der Bauchhöhle ergab auch hier, daß die Organstücke reaktionslos eingeheilt waren.

Wurden Meerschweinchen Organstücke präparierter Kaninchen implantiert, so zeigten die Meerschweinchen nicht nur eine Ueberempfindlichkeit gegen dasjenige Eiweiß, mit denen der Organspender (Kaninchen) präpariert worden war, sondern natürlich auch eine Ueberempfindlichkeit gegen das Eiweiß des Muttertieres selbst, also gegenüber Kanincheneiweiß.

Zu diesen Versuchen wurden die Organe von Kaninchen benutzt, die durch wiederholte Vorbehandlung mit Hammelserum einen Präzipitationstiter des Serums etwa von 1 : 1000 hatten.

Die Kaninchen wurden in gleicher Weise entblutet wie die Meerschweinchen. Von den Organen wurden auch hier 2 Stücke, entsprechend etwa einem Drittel des Gesamtorganes, in die Bauchhöhle implantiert.

Meerschweinchen, 200 g, erhält 2 Milzstücke eines mit Hammelserum präparierten Kaninchens in die Bauchhöhle. Nach 14 Tagen erhält das Tier (220 g Gewicht) 1,5 Hammelserum (0,7 pro 100 g Tier) intravenös.

12⁵⁸ Injektion.

12⁵⁶ heftige Krämpfe und Sprünge.

12⁵⁷ Reflexe erloschen.

12⁵⁸ tot.

Obduktionsbefund typisch.

Bei einem in analoger Weise vorbehandelten Meerschweinchen wurde die Reinjektion nicht mit Hammelserum, sondern mit Kaninchenserum vorgenommen.

Meerschweinchen, 220 g schwer, erhält 1,0 (0,45 Proz.) Kaninchenserum intravenös.

5⁴² Injektion. Sofort heftige Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

5⁴⁶ Atmung agonal.

5⁴⁷ Reflexe erloschen.

5⁴⁸ tot.

: Obduktionsbefund typisch.:

Die Versuche, in denen Agglutinine im Serum von Empfängertieren nachgewiesen waren, die mit den Organen von mit Bakterien immunisierten Spendertieren behandelt worden sind, ergeben, daß die implantierten Organstücke nach ihrer Einheilung weiterhin Antikörper sezerniert haben müssen.

Obwohl wir, wie bereits erwähnt, bei den Tieren, die mit Organen mit Eiweiß präparierter Individuen behandelt waren, Antikörper in der Form der Präzipitine im Reagenzglas nicht haben nachweisen können, so ist es doch in Analogie mit dem Verhalten der Agglutinationstiere höchst wahrscheinlich, daß auch Antieiweißkörper in kleinen Mengen abgeschieden worden sind, deren Nachweis aber nur durch den feineren Anaphylaxieversuch gelang. Doch besteht a priori auch die Möglichkeit, daß der anaphylaktische Prozeß bei unseren Tieren dadurch zustande gekommen ist, daß die Anaphylatoxinbildung an sessilen Rezeptoren der implantierten Gewebstücke stattgefunden hat. Die sessilen Rezeptoren, d. h. die im Ueberschuß gebildeten, aber nicht in die Blutbahn abgestoßenen Seitenketten spielen ja in der Immunitätslehre eine große Rolle und sind zur Erklärung der verschiedensten Phänomene herangezogen worden. Wenn wir die freien Antikörper im Serum auch nicht isoliert haben, so können wir sie doch an der ihnen eigentümlichen Funktion erkennen. Dagegen sind freilich die sessilen Rezeptoren völlig hypothetische Gebilde. Der eine von uns hat bei der Eiweißanaphylaxie in Analogie mit der Hypothese von Behring und Ehrlich zur Erklärung für die Toxinüberempfindlichkeit ihnen ursprünglich eine wesentliche Rolle zugeschrieben, weil wir so am ehesten die foudroyante Wirkung erklären zu können

glaubten, die ein an sich ungiftiger Eiweißkörper in minimalen Mengen bei der Reinjektion hervorruft.

Alle Versuche, die der eine von uns in Gemeinschaft mit G. Castelli unternommen hat, um die sessilen Rezeptoren bei präparierten Tieren nachzuweisen, sind aber gescheitert. Es gelingt weder, mit den Zellen präparierter Tiere die Ueberempfindlichkeit passiv zu übertragen, noch verankert sich das homologe Eiweiß an derartigen Zellen, noch bewirken sie auch zusammen mit dem homologen Antigen und Komplement eine Komplementablenkung.

Als es uns in Gemeinschaft mit Vallardi gelang, im Reagenzglas aus Eiweißmengen, wie sie auch bei der aktiven Anaphylaxie etwa die Grenzdosis bei der Reinjektion darstellen, ein akut tödliches Anaphylatoxin zu gewinnen, und wir die primäre Antiserumwirkung als anaphylaktische erkannt hatten, da war es zum mindesten höchst wahrscheinlich, daß die Anaphylaxie auch ohne Mitwirkung sessiler Rezeptoren zustande kommen kann. Doch es gab immer noch Autoren, die die Erscheinung bei der Ueberempfindlichkeit nicht ohne diese hypothetischen Zellgruppen erklären zu können glaubten.

In den vorstehend geschilderten Versuchen war aber nunmehr eine Versuchsanordnung gegeben, die mit absoluter Sicherheit zum mindesten gestattete, die Frage zu entscheiden, ob nicht die Anaphylaxie in vivo auch ohne Mitwirkung sessiler Zellrezeptoren zustande kommen kann.

Wir brauchten nur den Tieren, denen wir Organe präparierter Individuen implantiert hatten, die betreffenden Organstücke vor der Reinjektion herauszunehmen. Nur in den eingepflanzten Organkomplexen konnten sich ja sessile Rezeptoren befinden.

Wenn nun nach Entfernung dieser Organstücke die Anaphylaxie in gleicher Weise auslösbar war wie vorher, so war damit der Beweis geliefert, daß die Ueberempfindlichkeit auch ohne Mitwirkung sessiler Zellrezeptoren zustande kommen kann. Das Resultat unserer Versuche entsprach völlig der Erwartung.

Wir haben bei einigen der mit Organen präparierter Tiere behandelten Meerschweinchen durch Laparotomie vor der Re-

injektion zunächst die Organstücke auf das sorgfältigste entfernt. Nachdem sich die Tiere von der Operation völlig erholt hatten, haben wir dann das betreffende Eiweiß reinjiziert. Dabei ergab es sich, daß die Symptome der Ueberempfindlichkeit mit der gleichen Intensität eintraten, als wenn die Organstücke mit ihren hypothetischen sessilen Rezeptoren noch vorhanden gewesen wären.

Im nachstehenden folgen zwei entsprechende Versuche.

Meerschweinchen, 200 g, erhält 1,0 Hammelserum intravenös. Nach 5 Tagen in 2 Sitzungen je 1 ccm Hammelserum subkutan. Nach weiteren 8 Tagen wird das Tier entblutet, wie üblich mit Kochsalzlösung durchspült und von der völlig blutfreien Milz die Hälfte, von der gleichfalls blutfreien Niere etwa ein Drittel in 2 Stücken je einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingepflanzt. (Tiere von etwa gleichem Gewicht wie der Organspender.)

6 Tage nach der Implantation wurden per laparotomiam die schon völlig eingeeilten Organstücke wieder exstirpiert und die Meerschweinchen, nachdem sie sich völlig von der Operation erholt hatten, mit Hammelserum reinjiziert.

Versuch No. 1.

Meerschweinchen, 200 g, dem vorher Milz implantiert war, erhält 1,5 (0,7 pro 100 g) Hammelserum intravenös.

4⁴⁹ Injektion. Nach 2 Minuten Krämpfe und Sprünge, etwa 5 Minuten dauernd, dann Reflexe erloschen, agonale Atmung.
4⁵⁶ tot.

Obduktionsbefund: typisch.

Bei der Obduktion der Bauchhöhle ergab sich, daß von den implantierten Organstücken durch die Operation alles entfernt war.

Versuch No. 2.

Meerschweinchen, 200 g, dem vorher die Nierenstücke implantiert waren, erhält 1,1 Hammelserum intravenös.

4⁴⁸ Injektion.
4⁴⁶ Krämpfe und Sprünge.
4⁴⁶ Reflexe erloschen.
4⁵⁹ tot.

Obduktionsbefund: typisch.

Auch hier wurde bei der Sektion darauf geachtet, daß keine Spur des implantierten Organs bei der Operation zurückgeblieben war.

Die Versuche ergeben, daß die Ueberempfindlichkeit auch ohne sessile Rezeptoren zustande kommen kann, womit aber natürlich keineswegs gesagt ist, daß nicht doch im Organismus derartige Gruppierungen existieren¹⁾.

Wenn auch die Zellen die Antikörper produzieren, so brauchen sie deshalb doch keineswegs immer in den Zellen in einer Form vorhanden zu sein, die eine Verankerung des Antigens ermöglicht.

Zusammenfassung.

1) Werden Meerschweinchen blutleere Organe präparierter Tiere intraperitoneal implantiert, so werden die Tiere überempfindlich gegen das Eiweiß, mit dem die Organspender vorbehandelt sind, falls es sich um artfremde Organe handelt, auch gegen deren Eiweiß.

2) Diese Ueberempfindlichkeit bleibt auch nach der Entfernung des implantierten Organs bestehen, was gegen die Mitwirkung sessiler Rezeptoren in diesen Versuchen spricht.

1) Dafür sprechen vielleicht die interessanten Resultate von Bloch und Massini über lokale Trichophytie-Ueberempfindlichkeit (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 63).

Nachdruck verboten.

[Aus der Münchener Kinderklinik (Vorstand: Prof. Pfaundler).]

Experimentelle Untersuchungen über anaphylaktisches Gift.

Von **E. Moro** und **H. Tomono**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. März 1911.)

I. Versuche mit Antiserum-Tuberkulingemischen.

Unsere ersten Untersuchungen über anaphylaktisches Gift bezogen sich auf die Tuberkulose resp. auf die Tuberkulinreaktion. Sie wurden im März 1909 von Moro und Noda (1) begonnen, im Sommersemester 1910 von Moro und Wahl (2) fortgeführt und unter besonderer Berücksichtigung der jüngsten Ergebnisse der Anaphylaxieforschung neuerdings in Angriff genommen und bis zu einem gewissen Abschluß gebracht.

Die erste Fragestellung lautete: Ist das frische Serum von tuberkulinpositiven Individuen imstande, das Alttuberkulin *in vitro* derart zu verändern, daß es nunmehr auf der Haut von normalen, nichtinfizierten, also tuberkulinnegativen Menschen eine Entzündungsreaktion hervorruft oder nicht?

Unsere Fragestellung basierte auf der ziemlich allgemein akzeptierten und unseres Wissens zuerst von v. Pirquet und Wolff-Eisner ausgesprochenen Theorie über das Wesen der Integumentreaktion.

Beim Tuberkuloseinfizierten wirkt das Tuberkulin, auf die Haut oder Bindehaut gebracht, deshalb lokal entzündungserregend ein, weil der Infizierte im Besitze gewisser, gegen den Tuberkelbacillus und seine Derivate gerichteter lytischer Antikörper ist. Diese schließen das eingeführte Tuberkulin auf und machen daraus Gifte von Endotoxincharakter frei, die nun entzündungserregend wirken. Fehlen solche Antikörper oder sind sie nicht in hinreichender Menge vorhanden, dann bleibt die Reaktion aus (Wolff-Eisner).

„Wird das Tuberkulin von der Haut aufgenommen, welche solche Antikörper besitzt, so wird es zu einer Substanz verdaut, welche auf Zellen als Entzündungsreiz wirkt“ (v. Pirquet).

Versuchsanordnung.

Frisches Serum von Kindern mit sehr starker Kutanreaktion wurde mit Alttuberkulin in verschiedenen Prozentverhältnissen gemischt, in kleinen, mit Paraffin verschlossenen Reagenzröhrchen bezw. Glaskapillaren (2 mm Lichtung) durch 18 bis 48 Stunden bei 38° C gehalten und nach Ablauf dieser Zeit kutan verimpft.

Kontrollen.

- | | |
|---|---|
| 1) Mit frischem Serum von Kindern mit negativer Reaktion | } In gleichem Verhältnis mit Tuberkulin gemischt und vorbehandelt wie oben. |
| 2) Mit inaktiviertem Serum von Kindern mit positiver Reaktion | |
| 3) Mit Kochsalzlösung | |

I. Versuchsreihe (vom 10. III. bis 18. III. 09).

Frisches Serum eines skrofulotuberkulösen Kindes, Margarethe D., mit exzessiv starker Kutanreaktion.

- a) 0,025 Alttuberkulin + 0,48 Serum M. D. (ca. 5 Proz.)
- b) 0,05 Alttuberkulin + 0,2 Serum M. D. (20 Proz.)
- c) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 Serum M. D. (50 Proz.)

- 1) Marie B., 6 J., nach schwerer, krupöser Pneumonie. Am 7. III. kritisch entfiebert. Pirquet negativ.
- 10. III. 09. Kutanimpfung am Unterarm mit a, b, c: alle vollständig negativ.
- 13. III. 09. Kutanimpfung am Unterarm mit a, b, c (24 Stunden im Thermostaten): a negativ, b fraglich, c schwach positiv.
- 18. III. 09. Kutanimpfung mit a, b, c (48 Stunden im Thermostaten): a negativ, b schwach positiv, c stark positiv.

Keine Kontrollen.

Bakterioskopisches Strichpräparat ergibt bei a und c keine Bakterien, bei b zahlreiche Diplokokken.

Weitere Kutanimpfungen mit Alttuberkulin allein am 20. und 22. III. ergaben durchwegs positive Resultate.

Der Fall Marie B. ist also für unsere Frage nicht verwertbar. Er zeigt nur, daß im Verlauf schwerer krupöser Pneumonien, ähnlich wie bei Masern, die Reaktionsfähigkeit

auf Tuberkulinimpfungen passager schwinden kann, worauf unabhängig von uns (1) bereits von Hamburger (3), sowie neuerdings wiederum von Rolly hingewiesen wurde.

- 2) Karl L., 11½ Mon. Pirquet negativ.
18. III. 09. a, b, c (24 Stunden im Thermostaten): negativ.
Kontrollen 1, 2, 3: negativ.
- 3) Josef B., 7 Mon. Pirquet negativ.
18. III. 09. a, b, c (24 Stunden im Thermostaten): negativ.
Kontrollen 1, 2, 3: negativ.
- 4) Bertha M., 3¼ J. Pirquet negativ.
18. III. 09. a, b, c (24 Stunden im Thermostaten): negativ.
Kontrollen 1, 2, 3: negativ.
- 5) Louise Sch., 7 Mon. Pirquet vorher nicht geprüft.
18. III. 09. a, b, c (48 Stunden im Thermostaten): a negativ, b sehr schwach positiv, c schwach positiv.
Kontrolle 3 (5, 30, 50 Proz.): negativ.
- 6) Peter F., 4 J. Pirquet negativ (zweimal vorher geprüft).
18. III. 09. a, b, c (48 Std. im Thermostaten): a negativ, b schwach positiv, c deutlich positiv.
Kontrolle 3 (5, 20, 50 Proz.): negativ.

II. Versuchsreihe (23. III. 09).

Frisches Serum eines skrofulotuberkulösen Kindes, Joseph H., mit stark positiver Kutanreaktion.

a) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 frisches Serum J. H. (48 Std. im Therm.)

Kontrollen:

- b) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 inaktiv. Serum J. H. (48 Std. im Therm.)
- c) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 frisches Serum M. G. (gesunder Säugling mit negativem Pirquet, 48 Stunden im Thermostaten)
- d) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 inaktiv. Serum M. G. (gesunder Säugling mit negativem Pirquet, 48 Stunden im Thermostaten)
- e) 0,2 Alttuberkulin + 0,2 Kochsalzlösung (48 Std. im Thermostaten)

- 1) Karl L., 11½ Mon. (Pirquet neg.) a bis inkl. e: negativ (Insp. n. 24 u. 48^b)
- 2) Joseph B., 7 Mon. " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 3) Georg O., 10 Mon. " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 4) Johann P., 14 Mon. " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 5) Josef M., 7 Mon. " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 6) Richard K., 2 J., " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 7) Joseph M., 1½ J. " " a " " e: " " " 24 " 48^b
- 8) Louise Sch., 7 Mon. (Fall 5 der I. Versuchsreihe) a bis inkl. e: deutlich positiv (schon nach 24 Stunden).
- 9) Peter G., 4 J. (Fall 6 der I. Versuchsreihe) a bis inkl. e: positiv (nach 24 Stunden Entzündungshof 3—5 mm, keine Papelbildung; nach 48 Stunden deutlich positiv, Tuberkulinpapeln von 4—6 mm D.)

Aus den Versuchsreihen I und II ergibt sich, daß nach ein- bis zweitägiger Einwirkung des aktiven Serums von Menschen mit stark positiver Tuberkulinreaktion auf Alttuberkulin aus letzterem keine Stoffe entstehen, die normalen, nicht infizierten Menschen mit negativer Tuberkulinreaktion kutan verimpft, an Ort und Stelle entzündungserregend wirken. Die Versuche verliefen demnach in dieser Richtung negativ.

Eine scheinbare Ausnahme davon machten nur 2 Fälle: Der erste Fall entsprechend 5 und 8 und ein zweiter Fall entsprechend 6 und 9 der I. bzw. II. Versuchsreihe. Aus den Protokollen ist leicht ersichtlich, daß es sich dabei nicht um „reine Fälle“, sondern offenbar um bereits infizierte Kinder handelte, allerdings um sog. „sekundär Reagierende“, die zunächst negativ und erst bei wiederholter Impfung auf Tuberkulin positiv reagierten. Dabei ist es nun recht beachtenswert, daß beidemale die Kutanreaktion an jenen Stellen zuerst positiv verlief, wo das Tuberkulin mit dem „Antiserum“ gemischt verimpft wurde; denn zu einer Zeit, wo die Tuberkulin-Kochsalzkontrolle noch vollständig negativ war, zeigten sich an den Tuberkulin-Antiserumreaktionen bereits ganz deutliche Papelbildungen.

Um diese anscheinend reaktionsverstärkende Wirkung von Tuberkulinantiserumgemischen weiter zu prüfen, wurde die gleiche Versuchsanordnung bei tuberkulinpositiven Individuen in Anwendung gebracht.

III. Versuchsreihe (30. III. 09).

Frisches Serum eines Epileptikers G. mit sehr stark positiver Reaktion.

- a) 0,05 Alttub. + 0,95 frisch. Serum G. (ca. 5 Proz.)
- b) 0,1 Alttub. + 0,7 frisches Serum G. (20 Proz.)
- c) 0,2 Alttub. + 0,2 frisches Serum G. (50 Proz.)

48 Stunden
im
Thermostaten

Kontrollen mit frischem Serum eines gesunden Erwachsenen N. mit vollständig negativer Reaktion im gleichen Verhältnis mit Tuberkulin gemischt

Kutanimpfungen bei 5 Kindern mit positiver Kutanreaktion. Ergebnis bei a, b, c und bei den entsprechenden Kontrollen vollständig gleichförmig, also vollständig negatives Resultat.

II. Anaphylatoxinversuche mit Tuberkuloseantigen.

Fragestellung: Enthalten spezifische Tuberkulosepräzipitate ein Anaphylatoxin im Sinne Friedbergers? Das heißt: Gelingt es, aus Tuberkulosepräzipitaten mittelst Meerschweinchenkomplement ein Gift zu extrahieren, das normalen, nicht vorbehandelten Meerschweinchen (200—250 g) intravenös injiziert, anaphylaktische Erscheinungen hervorruft?

Die Fragestellung war im Hinblick auf die vielfachen Analogien der Tuberkuloseüberempfindlichkeit mit der Serum-anaphylaxie durchaus berechtigt und deren Beantwortung bedeutet in jedem Falle einen Fortschritt in der Erkenntnis des Wesens der Tuberkulinreaktion.

IV. Versuchsreihe.

Tuberkuloseantigen wurde mit sog. Antituberkulinserum gemischt, 2 Stunden bis zur Bildung eines deutlichen Präzipitates bei 38° gehalten, von der überstehenden Flüssigkeit abzentrifugiert und das entstandene Präzipitat zweimal mit reichlichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Das gewaschene Präzipitat wurde dann mit größeren Mengen frischen Meerschweinchenserums durch 24 Stunden im Thermostaten in Kontakt gelassen. Hierauf wurde scharf zentrifugiert und das überstehende klare Serum normalen Meerschweinchen (ca. 200—250 g) intravenös injiziert.

Nachdem es uns in mehreren vorbereitenden Versuchen nicht gelungen war, weder durch mehrmals wiederholte intravenöse Tuberkulininjektionen noch durch systematisch fortgeführte intraperitoneale Einspritzungen verriebener abgetöteter Tuberkelbacillen von Typus humanus beim Kaninchen Präzipitine zu erzeugen, benutzten wir als Antiserum zunächst ein uns von Herrn Dr. Bauer-Düsseldorf in lebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellten sog. Antituberkulin (vom Menschen), dessen Titer — geprüft mit Alttuberkulin und Hämolysehemmung — $\frac{1}{300}$ betrug. Deutlich wahrnehmbare Präzipitation mit Alttuberkulin blieb jedoch vollständig aus, Hingegen erhielten wir reichliche Niederschläge, als wir uns anstatt des Alttuberkulins der von den Höchster Farbwerken

in den Handel gebrachten sog. Agglutinationsflüssigkeit¹⁾ als Antigen bedienten.

Versuchsordnung²⁾.

Agglutinationsflüssigkeit	Antituberkulin (Bauer)
$\frac{1}{10.000}$ 4,2 ccm	$\frac{1}{10}$ 2,8 ccm
Frisches Meerschweinchenserum	Kontakt bei Zimmertemperatur
11 ccm	4 Stunden

1. Meerschweinchenversuch (30. V. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,3.

11⁸⁷ Intravenöse Injektion von 3 ccm.

Tier vollständig munter, läuft herum, putzt sich.

11⁴⁰ 36,8.

12 usf. Tier andauernd frisch, zeigt normales Verhalten.

Bleibt am Leben.

2. Meerschweinchenversuch (30. V. 10).

Temperatur vor der Injektion 38,1.

11⁶⁸ Intravenöse Injektion von 2,3 ccm.

Tier bleibt vollkommen frisch und munter.

11⁵⁷ 37,5. Zeigt keinerlei Erscheinungen.

Bleibt am Leben.

Daß diese beiden Versuche, die im unmittelbaren Anschluß an die erste Mitteilung Friedbergers angestellt worden waren, nicht viel aussagen, ist klar. Ohne weiteres läßt sich gegen die Versuchsordnung einwenden, daß die Extraktionsdauer, d. h. die Einwirkung des frischen Meerschweinchenserums auf die Präzipitate eine zu geringe war.

Im November 1910 wurden die Versuche fortgesetzt, und zwar bedienten wir uns einerseits eines intensiver wirkenden Antiserums, andererseits verlängerten wir die Extraktionsdauer und injizierten größere Komplementmengen.

Als Antituberkulinserum benutzten wir ein uns in lebenswürdigerweise von den Höchster Farbwerken zur Verfügung gestellten Antiserums vom Rind mit folgendem Tuberkulintiter:

1) Entspricht dem von R. Koch in der Deutsch. med. Wochenschr., 1901, No. 48 beschriebenen Präparat.

2) Die Versuchsordnung findet sich in der Inaug.-Dissert. des Frl. Wahl, l. c. auf p. 16 ausführlich beschrieben.

Alt-Tuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	2 Std. bei 38°
$\frac{1}{1}$ 0,1	+	0,1 Minimale Trübung
$\frac{1}{10}$ 0,1	+	0,1 Starke Trübung
$\frac{1}{100}$ 0,1	+	0,1 " "
$\frac{1}{200}$ 0,1	+	0,1 " "
$\frac{1}{1000}$ 0,1	+	0,1 Spur

Versuchsanordnung:

Tuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	2 Std. i. Thermost.
$\frac{1}{10}$ 2 ccm	+	2 ccm Starke Trübung

Intensiv zentrifugiert. Niederschlag rein weiß (wie Kreide). 2maliges Auswaschen des Präzipitates mit physiol. NaCl-Lösung. Zufügen von 5,3 ccm frischen Meerschweinchenserums. Kontaktdauer: 16 Std. im Thermostaten.

3. Meerschweinchenversuch (25. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,7°.

11⁵⁵ Intravenöse Injektion von 4,7 ccm des klaren Serumabgusses vom „Tbk.-Präzipitat“. 7 Min. aufgespannt.

11⁵⁶ Sitzt zusammengekauert mit etwas gesträubtem Fell da.

12⁰⁶ Wohlbefinden. Frißt gereichtes Heu. Auf Anstoß normale Fortbewegung.

12¹⁰ Fell glatt.

12²⁰ 38,8°.

12²⁰ Außer mäßigem Zittern kein Befund.

26., 29. XI. Ganz gesund.

Versuchsanordnung:

Tuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	Frisches Meer- schweinchenserum	Aufbewahrt Frigo 15 Std.; hierauf 5 Std. Zimmertemp.
$\frac{1}{10}$ 2,5 ccm	2,5 ccm	5 ccm	

4. Meerschweinchenversuch (29. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,3°.

5²⁴ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 6 Min. aufgespannt.

5²⁹ Läuft normal umher. Keine Erscheinungen.

5³⁰ Haare etwas gesträubt.

5³⁵ Frißt gereichtes Heu. Munter.

5⁴² Sitzt zusammengekauert da. Putzt und kratzt sich.

5⁴⁷ Hat sich vollständig erholt.

5⁵⁶ 36,9°

7⁴⁵ 38,4°

30. XI. Ganz gesund.

Mit Rücksicht auf diese ganz negativen Ergebnisse hielten wir uns später streng an die neuere Versuchsanordnung Friedbergers und beachteten bei der Versuchsanordnung

genau alle jene Momente, die Friedberger und Vallardi bei ihren jüngsten Serumanaphylatoxinversuchen als optimale erkannt hatten. Prinzipiell wurde also besonders darauf geachtet, daß das Antigen nicht in unverdünnter Form, sondern nur in verdünntem Zustande verwendet, daß ein Ueberschuß von präzipitierendem Antiserum tunlichst vermieden wurde (mittlere Dosen), daß die Komplementmengen ausreichende waren und endlich, daß die Extraktionsdauer nicht zu kurz, aber auch nicht zu lang bemessen wurde (ungefähr 24 Std.).

Zur Injektion bedienten wir uns lediglich ganz junger Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von ungefähr 200 g und achteten darauf, daß das komplementhaltige Meerschweinchenserum nur von jüngeren Tieren (nicht über 500 g) stammte.

Versuchsanordnung:

Agglutinationsflüssigkeit ¹⁾ (Höchst)	Tuberkuloseser. ²⁾ (Höchst)	Frishes Meerschweinchenser.	Thermost.
$\frac{1}{1000}$ 2 ccm	2 ccm	4,5 ccm	2 Std.

Kontrolle:

Agglutinationsflüssigkeit (Höchst)	Tuberkuloseser. (Höchst)	In aktives Meerschweinchenser.	Thermost.
$\frac{1}{1000}$ 1 ccm	2 ccm	4,5 ccm	20 Std.

Nach $2\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalt der beiden Röhrchen im Thermostaten bildete sich ein sehr reichliches Präzipitat. Dieses wurde zunächst 2mal mit 0,5-proz. Karbolkoehsalzlösung³⁾ und dann mit physiol. Kochsalzlösung

1) Das Antigen (Agglutinationsflüssigkeit) wurde von uns in folgender Weise hergestellt: 0,05 g zerriebener Tuberkelbacillen wurden mit 0,5-proz. Karbolkoehsalzlösung allmählich bis zum Verhältnis 1:100 gemischt und gut verrieben. Dann wurde 5 Min. lang mittelst elektr. Zentrifuge zentrifugiert, vom Bodensatz abgegossen und nochmals mit Karbolkoehsalzlösung 10-fach, d. h. 1:1000 verdünnt. Das Antigen wurde frisch verwendet.

2) Titer des Tuberkuloseserums Höchst mit der Agglutinationsflüssigkeit geprüft:

Agglutinationsflüssigkeit	Tuberkuloseserum (Höchst)	2 Std. bei 38°
$\frac{1}{1000}$ 0,1	0,1	Sehr reichlicher Niederschlag
$\frac{1}{2500}$ 0,1	0,1	
$\frac{1}{5000}$ 0,1	0,1	„Reichlicher“ Niederschlag
$\frac{1}{7500}$ 0,1	0,1	Spur
$\frac{1}{10000}$ 0,1	0,1	„

3) Mit Karbolkoehsalzlösung wurde deshalb gewaschen, weil das später zugesetzte Meerschweinchenserum, nach dem Kontakt mit den Präzipitaten, auch zu Kutan- und Intrakutanimpfungen am Menschen verwendet wurde.

gründlich gewaschen und die Nacht über im Frigo aufbewahrt. — Hierauf Zusatz von frischem resp. inakt. Meerschweinchenserum. Kontaktdauer 22 Stunden.

5. Meerschweinchenversuch (18. I.).

Flüssigkeit: Durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen 170 g. Temperatur vor der Injektion 37,3°.

6⁰⁰ Intravenöse Injektion von 3,0 ccm. 13 Min. aufgespannt.

Schwerster Kollaps sofort nach der Injektion. Nach der Entspannung extreme Dyspnoe; tiefe, in sehr langen Pausen erfolgende Inspirationen. Cornealreflexe erloschen. Keine Krämpfe.

6⁴⁰ †.

Obduktionsbefund ganz negativ. Lungenbefund negativ. Herzbefund negativ.

6. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (18. I.).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen 160 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

6¹⁰ Intravenöse Injektion von 3,0 ccm. 4 Min. aufgespannt. Läuft gleich munter umher; zeigt keinerlei Erscheinungen.

6³⁰ und 6³⁵ Keine Symptome. Haare glatt.

6⁴⁵ Temperatur 35,5°.

Bleibt am Leben.

Versuchsordnung.

	Agglutinations- flüssigkeit 1/1000 2 ccm	Tuberkuloseserum (Höchst) 1/2 2 ccm	Frisches Meerschweinchenserum 4,5 ccm
Kontrolle:	Agglutinations- flüssigkeit 1/1000 2 ccm	Tuberkuloseserum (Höchst) 1/2 2 ccm	Inaktiviertes Meerschweinchenserum 4,5 ccm

2 1/2 Stunden Thermostat. Reichliches Präzipitat. Waschen. Kontaktdauer mit frischem resp. inaktiviertem Meerschweinchenserum 24 Stunden.

7. Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (22. I. 11).

Flüssigkeit: Gelbrot, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 160 g, Temperatur vor der Injektion 37,5°.

11³⁷ 3 ccm intravenö. 4 Minuten aufgespannt.

11³⁸ Stoßweise Atmung. Vereinzelte Ruckbewegungen¹⁾.

11⁴⁵ Bisher keine weiteren Erscheinungen.

11⁵⁰ Vollständig normal.

12⁰⁰ Temperatur 37,5°.

Gesund; bleibt am Leben.

1) Mit der Bezeichnung „Ruckbewegung“, die in unseren Protokollen öfters wiederkehrt, sollen ganz kurzdauernde, ruck- oder stoßweise erfolgende krampfartige Bewegungen der Brust- resp. Bauchmuskulatur aus-

8. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (22. I. 11).

Flüssigkeit wie oben.

Temperatur vor der Injektion 37,2°.

12¹³ 2,7 intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

Bis 12¹² keine Erscheinungen.

12¹⁷ Temperatur 36,3°.

Gesund; bleibt am Leben.

Versuchsanordnung.

	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	Frisches Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	4,5 ccm
Kontrolle:	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	Inaktiviertes Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	4,5 ccm

Nach 3-stündigem Aufenthalt im Thermostaten reichliches Präzipitat.
Kontaktdauer mit Meerschweinchenserum 24 Stunden.

9. Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (22. I. 11).

Flüssigkeit: Gelbrot, klar, durchsichtig, geruchlos.

Meerschweinchen, 150 g, Temperatur 37,8° vor der Injektion.

11⁴⁰ 2,8 in die Carotis; ca. 3 ccm Venenblut verloren. Stoßweise,
beschleunigte Atmung. Schüttelt sich. Haare gleich gestäubt.

12⁰⁰ und 12¹⁵ Matt, aber keinerlei Krampferscheinungen.

12³⁰ Normal.

12³⁰ 32,5° Temperatur. Keine Symptome.

Stark geschwächt; bleibt am Leben.

9 a. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (22. I. 11).

Mißlungen, wegen zu zarter Halsvenen.

Versuchsanordnung.

	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	Frisches Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	4 ccm
Kontrolle:	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	Inaktiviertes Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	3,5 ccm

Nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden im Thermostat reichliches Präzipitat. Kontakt-
dauer mit Meerschweinchenserum 22 Stunden.

gedrückt werden, die an leichte Würgebewegungen, am ehesten an Singultus erinnern. Wir beobachteten diese „Krämpfe“ wiederholt auch bei den verschiedensten Kontrollversuchen, auch nach der Injektion von homologem Serum und von schwacher Sodalösung; sie haben demnach mit anaphylaktischen Erscheinungen sicher gar nichts zu tun.

Traten diese „Krämpfe“ mit größerer Intensität auf, so bezeichneten wir sie als „blitzartige Ruck- oder Krampfbewegungen“.

10. Meerschweinchenversuch (6. II. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 38,5°.

6⁰⁰ 3 ccm intravenös. 3 Minuten aufgespannt. Sofort p. inj. zahlreiche Würgbewegungen und momentane, blitzartige Krämpfe.

6⁰⁶ Ruhig und überaus matt. Vorderbeine wie gelähmt, Tier schleppt sich kaum vorwärts und stürzt nach vorn. Dann traten plötzlich typische Krämpfe auf, die sich in immer stärkerer Intensität wiederholten. Atmung zeitweise stillstehend. Cornealreflex vorhanden.

6⁰⁶ Atmung nicht beschleunigt, auch nicht stoßweise. Sichtlich erholt.

6¹⁰ Sitzt zusammengekauert mit gesträubtem Fell da und friert.

6¹⁶ 33,1°!

Bleibt am Leben.

11. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (6. II. 11).

Flüssigkeit: wie oben.

Meerschweinchen, 250 g, Temperatur vor der Injektion 38,5°.

6¹⁸ 3 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

6¹⁶—6³⁶ Nicht die geringsten Erscheinungen. Haare glatt. Tier lebhaft und munter.

6³⁶ 38,7°.

Bleibt am Leben.

Es folgt ein weiterer Versuch, wobei das fertige Präzipitat (im Medium Antigen-Antiserum, ohne Komplement) injiziert wurde. Bekanntlich erhielten Doerr und Russ ebenso wie später Friedberger und Vallardi auch mit Serumpräzipitaten anaphylaktische Erscheinungen, die allerdings nicht akut, sondern meist erst einige Zeit später einsetzten.

Versuchsordnung.

Tuberkulin	Tuberkuloseserum (Höchst)	30 Min. Thermostat.
$\frac{1}{10}$ 2,5 ccm	+ 2,5 ccm	Deutliche diffuse Trübung.
		Keine flockige Niederschlagsbildung.

Zur Injektion gelangten 4,5 dieser Flüssigkeit.

12. Meerschweinchenversuch (30. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,3°.

12³⁵ Intravenöse Injektion von 4,5 ccm. 5 Minuten aufgespannt.

12⁴⁰ Zittert. Gesträubtes Fell.

12⁵⁵, 1⁰⁰ Keinerlei Erscheinungen.

1⁰⁶ Munter.

1³⁵ 36,6°.

29., 30. XI. Ganz gesund.

Ergebnis: Von 10 Hauptversuchen mit Tuberkulosepräzipitaten verliefen 8 ganz negativ. Es waren keinerlei anaphylaktische Erscheinungen feststellbar. In Versuch 6 zeigte sich eine sehr mäßige Temperaturabnahme (2°); sonst fehlte auch dieses empfindliche Phänomen.

Bei Versuch 5 erfolgte akuter Tod sofort nach der Injektion. Die sehr erschwerte, dyspnoische, stoßweise Atmung war zwar äußerst auffällig, indes fehlte merkwürdigerweise der für Anaphylaxie charakteristische Obduktionsbefund.

Erst in allerjüngster Zeit (Versuch 10) erzielten wir ein deutlich positives Resultat. Zwar blieb das Tier am Leben, aber die Erscheinungen waren ganz die gleichen, wie wir sie bei unseren besten positiven Rinderserumversuchen gelegentlich zu sehen bekamen. Da die Kontrolle (Versuch 11) vollständig negativ verlief, so möchten wir diesem einen Versuch eine volle Beweiskraft beimessen (Temperatursturz: 5,4°). Er zeigt, daß es bei unserer Versuchsanordnung gelingt, aus Tuberkulosepräzipitaten mittels frischen, aktiven Meerschweinchenserums einen Stoff zu extrahieren, der, jungen Meerschweinchen intravenös injiziert, bei diesen akute anaphylaktische Krankheitserscheinungen hervorzurufen vermag (über einen weiteren positiven Versuch siehe unten).

III. Der Friedbergersche Anaphylatoxinversuch mit verschiedenen Eiweißantigenen tierischer Herkunft.

Die durchweg negativen Ergebnisse, die wir anfangs mit Tuberkulosepräzipitaten der Reihe nach erzielten, veranlaßten uns schon vor geraumer Zeit (Mai, Juni 1910), die Anaphylatoxinversuche Friedbergers mit Serumpräzipitaten zu wiederholen; und zwar stellten wir unsere Versuche nicht nur mit Seris (Pferd, Rind), sondern auch mit anderen Antigenen tierischer Herkunft (Hühnereiweiß, Kuhmilch) an. Unsere Experimente sind zwar größtenteils ganz nach dem Muster der Friedbergerschen Vorschriften ausgeführt und bieten demnach an sich nichts wesentlich Neues. Da sie jedoch eine nach jeder Richtung hin objektive Nachprüfung seiner Grundexperimente darstellen, so halten wir uns, mit Rücksicht auf die anscheinend große Bedeutung der Friedbergerschen Schlüsse für die ganze Lehre von der Infektion und von der

Immunität und im Hinblick auf die herrschenden Kontroversen, für berechtigt, die Protokolle in extenso zu publizieren.

V. Versuchsreihe.

Zunächst seien einige Vorversuche mitgeteilt, die dartun konnten, daß die intravenöse Injektion größerer Mengen frischen homologen Serums, selbst von ganz jungen Meerschweinchen, ohne akute Reaktion ertragen wird.

1. (13.) Meerschweinchenversuch (9. XII. 10).

240 g. Temperatur vor der Injektion 38,1°.

5¹⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm frischen Meerschweinchenserums. (Dabei ca. 3 ccm Blut verloren.) 4 Min. aufgespannt.

5⁴⁵ Außer etwas beschleunigter Atmung vollständig normaler Befund. 5⁵⁵ 38,2°.

6 Gar keine Erscheinungen.

10. XII. Entzündung und beginnende Vereiterung der Schnittwunde. Etwas kränklich. 34,6°.

11. XII. †.

2. (14.) Meerschweincherversuch (9. XII. 10).

250 g. 38° vor der Injektion.

5¹⁵ 5 ccm ganz frischen Meerschweinchenserums intravenös. 3 Min. aufgespannt.

5¹⁸, 5⁵⁵ Gar keine Erscheinung. Munter.

5⁶⁵ 37°.

6 Ganz gesund.

10., 13. XII. Bleibt dauernd gesund.

Im nächsten Versuch arbeiteten wir mit einem absichtlich verunreinigten und 24 Stunden lang bei 38° bebrütetem Meerschweinchenserum. Auch hier zeigten sich keinerlei Erscheinungen, die mit anaphylaktischen hätten verwechselt werden können.

3. (15.) Meerschweinchenversuch (14. XII. 10).

250 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°. 5 Min. aufgespannt.

2⁴⁵ 4 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt.

2⁵⁰ Läuft sofort herum. Atmung beschleunigt. Ruckbewegungen oft.

2⁵² Frißt Heu.

2⁵⁵ Zittern. Gestäubtes Haar. Sonst munter.

3 Oeffters momentane Ruckbewegung.

3¹² 35°.

4⁰⁷ 37°. Normales Befinden.

15. XII. Matt und schwach.

16. XII. Zunehmende Schwäche. † in der folgenden Nacht.

A. Pferdeserum.**VI. Versuchsreihe.**

Inaktiviertes¹⁾ Pferdeserum wurde mit Antipferdeserum gemischt, 2 Stunden (event. noch etwas länger) bis zur deutlichen Präzipitatbildung bei 38° (resp. bei Zimmertemperatur) gehalten, von der überstehenden Flüssigkeit abzentrifugiert und das Präzipitat zweimal mit reichlichen (jedesmal ca. 20 ccm) Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Hierauf Zusatz von frischem resp. inaktivem Meerschweinchenserum. Extraktionsdauer meist ungefähr 24 Stunden (siehe Versuchsanordnungen). Hierauf wurde scharf abzentrifugiert und der Abguß normalen Meerschweinchen (von ca. 200—300 g) intravenös eingespritzt.

In dieser Versuchsreihe bestreben wir uns, zunächst reichliche Niederschläge zu gewinnen, in der naheliegenden Erwartung, daß aus größeren Präzipitaten auch größere Giftmengen zu erhalten sein dürften; zumal Friedberger selbst angibt, daß die Giftextraktion aus großen Präzipitaten schneller vor sich gehen soll.

Da aber Friedberger andererseits versichert, daß die Giftbildung von der Menge des Präzipitates vollkommen unabhängig und das Hauptgewicht wohl nur auf die Zusammensetzung (die quantitativen Verhältnisse) des Präzipitates zu legen sei, so wurde in unseren späteren Versuchen auf dieses Moment weniger geachtet und mit den Antiseris etwas sparsamer vorgegangen.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum (21) ²⁾	Frisches Meerschweinchenserum	Thermost.
$\frac{1}{40}$ 10 ccm	10 ccm	5,5 ccm	25 Std.

1) Bei 56° C durch $\frac{1}{2}$ Stunde.

2) Kaninchen 21:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm inakt. Pferdeserum.

12. XI. Prüfung: negativ.

14. XI. Subkutane Injektion von 1 ccm.

15. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm.

6. XII. Blutentnahme.

Titer bis $\frac{1}{100\,000}$ positiv.

1. (16.) Meerschweinchenversuch (11. XII. 10).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

240 g. Temperatur vor der Injektion 38,2°.

12¹⁶ 4,0 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

12²⁰ Sitzt ganz ruhig da. Bewegt sich auf Anstoß nicht vorwärts. S. beschleunigte, stoßweise Atmung. Oefers blitzartige Ruckbewegung.

12³⁴ Hat sich etwas erholt. Läuft umher. Kein Zittern. Haare nicht gestäubt.

1 35,6°.

1¹⁸ Keine Erscheinungen.

13. XII. Bleibt gesund.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum (21)	frisches Meer- schweinchenserum	Thermost.
¹ / ₄₀ 10 ccm	10 ccm	5,5 ccm	25 Std.

2. (17.) Meerschweinchenversuch (11. XII. 10).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

250 g. Temperatur vor der Injektion 37,2°.

12³⁰ 4,0 ccm intravenös. 6 Min. aufgespannt.

12³⁸ Läuft umher.

12³⁸ Etwas beschleunigte, stoßweise Atmung.

12⁴⁹ Wiederholt blitzartige Ruckbewegungen.

12⁵⁵ Lebhaft, munter. Juckreiz.

1⁰⁴ 37,1°.

1¹⁸ Normal.

12. XII. † nachts.

Versuchsanordnung (Kontrolle):

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum (21)	Inakt. Meer- schweinchenserum	Thermost.
¹ / ₄₀ 20 ccm	20 ccm	12 ccm	25 Std.

3. (18.) Meerschweinchenversuch (Kontrollversuch) (11. XII. 10).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

265 g. Temperatur vor der Injektion 37,9°.

12⁴² 4,5 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt.

12⁴⁶ Liegt ruhig da. Haare gestäubt.

12⁵⁵ Zittern. Blitzartige Ruckbewegungen. Juckreiz.

12⁵⁷ Stark gestäubtes Fell.

1⁰⁸ 37,2°.

1¹⁴ Schwerkranker Eindruck.

12. XII. Mattigkeit, Schwäche.

13. XII. † nachts.

Versuchsanordnung (Kontrolle):

4. (19.) Meerschweinchenversuch (Kontrollversuch) (11. XII. 10).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

280 g. Temperatur vor der Injektion 38,2°.

12⁴⁶ 4,5 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. — Läuft sofort herum.12⁵⁰ Haare gestäubt. Sonst keinerlei Erscheinungen.1⁰⁹ Lebhaft, munter.1¹⁸ 38,0° C. — St. id.

12. XI. Matt und schwach.

13. XII. Gesund, bleibt am Leben.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum (30) ¹⁾	Frisches Meer- schweinchenserum	Thermost.
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	17 Std.

5. (20.) Meerschweinchenversuch (4. XII. 10).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion nicht notiert.

1 Intravenöse Injektion von 4 ccm. 4 Min. aufgespannt.

1⁰⁴ Momentane Ruckbewegungen.1⁰⁶ Keinerlei Erscheinungen. Haare nicht gestäubt.1⁰⁹, 1¹⁸ Dasselbe.1²⁰ Auf Anstoß läuft das Tier lebhaft herum. Temperatur 35,6°.

5. XII. Große Mattigkeit. Vordere Extremitäten kraftlos, wie gelähmt.
Hintere Extremitäten nicht. Das Tier schleppt sich kaum von der Stelle
weg. Noch vormittags †.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum (46) ²⁾
$\frac{1}{30}$ 10 ccm	10 ccm
$\frac{1}{30}$ 10 ccm	10 ccm

3 Std. Thermost. 15 Std. Zimmertemperatur. — Beide Proben ver-
einigt, sehr geringes Präzipitat; daher Zusatz von je weiteren 2 ccm Anti-
serum. 3 Std. Thermost. Zentrifugieren. Geringer Niederschlag.

1) Kaninchen 30:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm i. a. Pferdeserum.

11. XI. Prüfung: $\frac{1}{1000}$, $\frac{1}{5000}$ positiv; $\frac{1}{100000}$ negativ.

12. XI. Blutentnahme.

2) Kaninchen 46:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm i. a. Pferdeserum.

11. XI. Prüfung auf Präzipitin negativ.

12. XI. 1 ccm i. a. Pferdeserum subkutan.

13. XI. 1 ccm i. a. Pferdeserum intravenös.

21. XI. Prüfung: $\frac{1}{1000}$ stark positiv, $\frac{1}{100000}$ positiv.

24. XI. Blutentnahme.

Dazu 5,5 ccm frisches Meerschweinchenserum. 30 Std. Thermost.
12 Std. Frigo.

6. (21.) Meerschweinchenversuch (10. XII. 11).

Flüssigkeit klar, geruchlos.

240 g. Temperatur vor der Injektion 36,7°.

2¹⁴ 4,1 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

2²⁰ Zittert, gestäubtes Haar. Blitzartige Ruckbewegungen.

2²⁸ Atmung sehr beschleunigt, stoßweiße.

2³⁰ Sieht schwer krank aus.

2³⁵ Fröstelt.

2⁴⁵ 31,6°.

11. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeserum	Antipferdeserum 46
a) $\frac{1}{20}$ 10 ccm	+ 10 ccm (30)
b) $\frac{1}{40}$ 10 ccm	+ 10 ccm (30)

Reichliches Präzipitat von a, b in einem Röhrchen vereinigt. Dazu
11 ccm frisches Meerschweinchenserum.

Thermost.: 25 Std.

7. (22.) Meerschweinchenversuch (7. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

245 g. Temperatur vor der Injektion 37°.

5³⁰ Intravenöse Injektion von 4 ccm des frischen Komplementabgusses.

† ohne besondere auffallende Erscheinungen eine Min. post inj.

8. (23.) Meerschweinchenversuch (7. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

260 g. Temperatur vor der Injektion 37,3°.

5³⁵ 2,5 ccm des frischen Komplementabgusses intravenös. 3 Min.
aufgespannt. Läuft herum, keine Erscheinungen.

5³⁰ Sitzt zusammengekauert mit gestäubten Haaren da.

5³⁴ Auf Anstoß sehr langsame, offenbar erschwerte Fortbewegung.

5³⁵ Momentane stoßweise Ruckbewegungen des ganzen Körpers.

6° 35,7°.

6⁵ Hat sich anscheinend erholt.

8. XII. Schwer krank, matt, leises Quiecken.

9. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung:

Inakt. Pferdeser.	Antipferdeserum (30)	Frishes Meerschweinchenserum	Thermost.
$\frac{1}{50}$ 2 ccm	2 ccm	$\frac{1}{10}$ 4 ccm	24 Std.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IX.

41

9. (24.) Meerschweinchenversuch (19. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,3.

3³⁵ Intravenöse Injektion von 2,3 ccm. 7 Min. aufgespannt.3⁴⁰ Frost. Kurzdauernde Ruckbewegungen, ähnliche ruckweise Muskelkrämpfe.3⁴⁵ Haare nicht gestäubt.3⁵⁵ Sitzt ruhig da und zittert, wiederholte momentane Ruckbewegungen wie oben.4¹⁰ 36,8. — Tier macht ganz normalen Eindruck. Läuft lebhaft umher.5⁴⁰ 37,5 °.

20. XI. Normales Befinden.

Bleibt dauernd gesund.

Versuchsanordnung (Kontrolle).

Inakt. Pferdeser.	Antipferdeserum (30)	Inaktives Meerschweinchenserum	Thermost.
¹ / ₅₀ 2 ccm	2 ccm	¹ / ₁₀ 4 ccm	24 Std.

10. (25.) Meerschweinchenversuch (Kontrollversuch) (19. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,9 °.

4³⁵ Intravenöse Injektion von 3 ccm. 6 Min. aufgespannt.4⁴¹ Ruckweiser, Brechbewegung ähnlicher Muskelkrampf einmal.

5° Kein gestäubtes Fell. —

5¹⁵ 37,6 °.5⁴⁵ 39,1 °.

20. XI. Normales Befinden.

Bleibt dauernd gesund.

Versuchsanordnung.

Inakt. Pferdeser.	+ Antipferdeser. (30)	3 Std. Thermost.
¹ / ₅₀ 2 ccm	2 ccm	Ziemlich deutliche Präzipitation.

Aufbewahren des Röhrchens durch 24 Std. im Frigo, wegen Beschädigung der Zentrifuge.

23. XI. Präzipitat abzentrifugiert, 2mal gewaschen. Dazu 5 ccm 3-proz. Sodalösung. 15 Std. Frigo. Präzipitat fast vollständig aufgelöst. Abzentrifugiert.

11. (26.) Meerschweinchenversuch (24. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,7.

11⁴⁰ Intravenöse Injektion von 4 ccm der Sodalösung. 12 Min aufgespannt.11⁵⁵ Gleich post inj. fraß das Tier gereichtes Heu.12⁵ Sitzt ruhig da; zittert ein wenig. Haare nicht gestäubt.12¹⁰ Befinden gut.12³⁵ 37,6 °.

1° Normal.

29. XI. Tier gesund.

Das Ergebnis der eben angeführten 7 Hauptversuche mit Pferdeserum läßt sich kurz folgendermaßen zusammenfassen: Negativ verliefen die Versuche 2, 5, 8, 9. Der Versuch 7 schaltet aus, da das Tier sofort nach der Injektion ohne alarmierende Symptome und ohne eruierbaren Grund akut verendet ist. Sektion wurde zwar keine vorgenommen; indes wäre ein anaphylaktischer Befund kaum zu gewärtigen gewesen, da der Atmungstypus vollständig fehlte. — Die Versuchsergebnisse bei 1 und 6 sind vielleicht doch insofern als positive zu betrachten, als sich in beiden Fällen ein ziemlich beträchtlicher Temperatursturz feststellen ließ. Typische Krämpfe traten allerdings niemals auf. Immerhin mußte es schon in dieser wenig besagenden Versuchsreihe auffallen, daß die Kontrollversuche mit inaktiven Seris vollständig negativ verliefen und daß wir in der Kontrollreihe Temperaturerniedrigungen vollständig vermißten.

VII. Versuchsreihe.

In dieser Reihe wurde ausschließlich frisches, aktives Antigen verwendet. Ferner berücksichtigten wir hier streng die von Friedberger neuerdings angegebenen optimalen Versuchsbedingungen und wiederholten mehrmals die Extraktion ein und desselben Präzipitates.

Versuchsanordnung.

	Aktives Pferdeserum	Inaktives Antipferdeserum	Frisches Meerschweinchenserum
A ₁	$\frac{1}{10}$ 1 ccm	1 ccm	4 ccm
B ₁	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	2 ccm	6 ccm
	Aktives Pferdeserum	Inaktives Antipferdeserum	Inakt. Meerschweinchenserum
Kontrollen { A ₂	$\frac{1}{10}$ 1 ccm	1 ccm	4 ccm
{ B ₂	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	2 ccm	6 ccm

Nach 4-stündigem Aufenthalt der 4 Röhrchen im Thermost. diffuse Trübung; hierauf über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach scharfem Abzentrifugieren geringe Menge von Präzipitat. Mehrmaliges Waschen mit Kochsalzlösung. Kontakt mit frischem bzw. inakt. Meerschweinchenserum 23 Std. Oefers geschüttelt.

1. (27.) Meerschweinchenversuch mit A₁ (31. XII. 10).

Flüssigkeit: Rubinrot, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen 220 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

4** 3,1 ccm intravenös. 5 Min aufgespannt. Verlust von ungefähr 2 ccm Venenblut.

41*

4³⁴ Läuft umher. Ruckbewegung und momentanes Zusammenzucken. Pfeift laut.

4³⁰ Munter, lebhaft. Keine Erscheinungen.

4³² Sitzt mit gesträubten Fell zusammengekauert da. Erholt sich aber bald und läuft wieder rasch umher.

4³⁴ Zuckt mit halbgeschlossenen Augen krampfhaft zusammen. Trotzdem lebhaft.

4⁴⁰ Kleine, blitzartige Zuckungen wiederholen sich öfters.

4⁴⁵ Temperatur 37,5°. Keine Erscheinungen. Haare glatt. Läuft rasch umher.

5° Keinerlei Erscheinungen.

1. I. Vollständig normal; bleibt am Leben.

2. (28.) Meerschweinchenversuch mit A₂ (Kontrolle) (31. XII. 10).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 38,1°.

5³⁷ 4 ccm intravenös. 8 Min. aufgespannt. Ca. 3 ccm Venenblut verloren.

5³⁹ Momentane, blitzartige Zuckungen.

5³⁹ Läuft lebhaft umher. Putzt sich. — Ruckbewegungen.

5³⁵ Sehr beschleunigte Atmung. Ruck- und Würgbewegungen.

5⁴⁰ Schleppt sich langsam und mühsam vorwärts. Haare gestäubt.

5⁴⁵ Temperatur 35,8°.

1. I. Gesund, lebhaft. Bleibt am Leben.

3. (29.) Meerschweinchenversuch mit B₁ (31. XII. 10).

Flüssigkeit: Rubinrot, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion nicht notiert.

4³² 4 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Sitzt ruhig mit gestäubten Haaren da.

4³⁵ Ruckbewegung. Auf Anstoß keine Reaktion.

4⁴⁰ Atmung beschleunigt.

4⁴⁵ und 5° Keinerlei Erscheinungen.

5¹³ Temperatur 37,3°.

1. I. Gesund und munter.

4. I. † ohne alarmierende Erscheinungen.

Obduktion: Leber sehr blutreich, Nieren groß, mit hämorrhagischen Flecken besetzt. Nebennieren und Dünndarm injiziert. Lunge klein, kollabiert, von rötlicher Farbe. Herz groß und schlaff.

4. (30.) Meerschweinchenversuch mit B₂ (Kontrolle) (31. XII. 10).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 38,4°.

5¹ 3,1 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

5⁴ Ruckbewegungen.

5⁵ Keine Erscheinungen.

5⁷ Munter.

5¹⁰ und 5¹² Keine Erscheinungen; putzt sich.

5⁴⁰ Temperatur 38,5°.

1. I. Gesund und lebhaft.

Die zu den eben beschriebenen Tierversuchen verwendeten Präzipitate A₁, A₂, B₁, B₂ wurden nach ca. 17-stündiger Aufbewahrung im Frigo zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen und dann nochmals mit frischem Komplement versetzt.

A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	} 23 Stunden im Thermostaten oft geschüttelt).
4 ccm	3,5 ccm	4 ccm	3,5 ccm	

5. (31.) Meerschweinchenversuch mit A₁ (II. Extraktion) (2. I. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,8°.

3⁴⁴ 3,5 ccm in die Carotis (I). 18 Minuten aufgespannt. † während der Injektion.

6. (32.) Meerschweinchenversuch mit A₂ (II. Extraktion) (2. I. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

4²⁸ 3,3 ccm intravenös. 5 Minuten aufgespannt. Läuft herum; lebhaft und munter.

4⁵⁵ Keinerlei Erscheinungen.

4⁴⁸ Zeitweise Ruckbewegungen. Normal.

5⁴ 36,7°.

Bleibt gesund am Leben.

7. (33.) Meerschweinchenversuch mit B₁ (II. Extraktion) (2. I. 11).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,2°.

4¹⁸ 3,2 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

4¹⁵ Läuft rasch umher.

4¹⁸ Zeitweise Ruckbewegungen. Atmung beschleunigt.

4²⁰ Frißt Heu. Zeigt keinerlei Erscheinungen.

4²⁸ Sitzt mit gestäubten Haaren ruhig da. Bewegt sich aber auf Anstoß normal vorwärts.

4⁴⁰ Normal. Kräftig.

4⁵⁴ Temperatur 37,5°.

4. I. †.

Obduktion: Nieren und Nebennieren auffallend groß, Dünndarm stark injiziert. Lungen klein; Herz groß und schlaff.

8. (34.) Meerschweinchenversuch mit B₂ (II. Extraktion) (2. I. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 38°.

4²⁵ 2,8 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt.

4²⁸ Läuft munter umher.

4⁴⁰ Bisher keinerlei Erscheinungen.

4⁴⁵ Ruckbewegungen.

4⁵⁰ Unverändert. Putzt sich.

5⁵ Temperatur 38,1°.

5. I. †.

Obduktion: Lungen und Herz o. B.

Nach zweimaligem Waschen wurden die Präzipitate A₁, A₂, B₁, B₂ nochmals mit je 6 ccm frischen Komplements extrahiert (26 Stunden im Thermostaten; öfters geschüttelt).

9. (35.) Meerschweinchenversuch mit A₁ (III. Extraktion) (4. I. 11).

Flüssigkeit: gelbrot, leicht getrübt, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,2°.

12¹¹ 3,5 intravenös. 10 Minuten aufgespannt. Gleich nach der Injektion große Unruhe und Dyspnoe. †.

Obduktion: Lungenbefund: deutlich positiv¹⁾. Herz-befund: positiv²⁾. Därme, insbesondere Dünndarm, stark injiziert. Nebennieren intakt.

10. (36.) Meerschweinchenversuch mit A₂ (III. Extraktion) (4. I. 11).

Flüssigkeit: leicht getrübt, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur nicht gemessen.

12⁴⁸ 3,5 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt. Sehr schwach, schleppt sich mühsam vorwärts. Zittert. Stoßweise, beschleunigte Atmung.

12⁵⁴ Atmungstypus andauernd gleich. Haare gestäubt. Ruckbewegungen.

1⁴ Schwer krank. Schüttelt sich öfters. Augen halb geschlossen.

1¹⁵ Temperatur 33,2°. Keine weiteren Erscheinungen.

5. I. †.

Obduktion negativ.

11. (37.) Meerschweinchenversuch mit B₁ (III. Extraktion) (4. I. 11).

Flüssigkeit: gelbrot, leicht getrübt, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur nicht gemessen.

12⁵⁴ 3 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt. Sitzt gleich nach der Injektion ruhig da.

1) Entsprechend den von Auer und Lewis, sowie von Biedl und Kraus aufgestellten Kriterien. Lungen: stark aufgebläht, starr, von weißlicher Farbe.

2) Bei der Obduktion, die niemals unmittelbar, sondern mit wenigen Ausnahmen ungefähr $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde p. m. ausgeführt wurde, achteten wir besonders auf den Kontraktionszustand des Herzens und sprachen von einem positiven Befund dann, wenn das Herz klein, systolisch kontrahiert war und ungeronnenes Blut enthielt (Richet, Arthus).

12³⁶ 4—5 mal sehr deutliche krampfartige Sprungbewegungen. Liegt dann ganz kraftlos mit auseinandergespreizten Beinen da. Stoßweise Atmung. Cornealreflexe vorhanden.

12³⁸ Erholt sich wieder. Läuft langsam umher.

12⁴⁶ Normal.

1⁶ Sitzt zusammengekauert mit gestäubten Haaren da. Läuft aber auf Anstoß rasch davon.

1²⁶ Temperatur 34,2°.

Bleibt am Leben.

12. (38.) Meerschweinchenversuch mit B₂ (III. Extraktion) (4. I. 11).

Flüssigkeit: gelbrot, leicht getrübt, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,2°.

12³⁶ 3,5 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt. Schleppt sich langsam vorwärts.

1⁰ Beschleunigte Atmung. Sonst keine Erscheinungen.

1⁵ Sitzt zusammengekauert da und schüttelt sich öfters.

1⁷ Gestäubte Haare.

1¹⁰ Frißt Heu.

1²⁰ 36,5°.

Keine Erscheinungen. Bleibt am Leben.

Mikroskopische Untersuchung der Präzipitate. Im Methylenblausstrich, wie zu erwarten, eine Unzahl verschiedener Bakterien.

Hier begegneten wir also den ersten positiven Ergebnissen.

Die Versuche mit der I. Extraktion verliefen negativ. Nur den 1. Versuch könnte man, bei weniger rigorosem Vorgehen, vielleicht als schwach positiv ansehen, indes vermißten wir hier die typische Temperatursenkung.

Auch die Versuche mit der II. Extraktion sind, da Versuch 5 leider ausschaltet, als negativ anzusehen.

Erst bei der III. Extraktion verzeichneten wir 2 positive Resultate, und zwar bezogen sich beide auf die den zwei Hauptversuchen entsprechenden Extrakte. In Versuch 9: akuter Erstickungstod mit typischem Obduktionsbefund. In Versuch 10: sehr ausgesprochene, symptomatisch eindeutige Krampferscheinungen.

Besonders hervorgehoben sei, daß sich, in Uebereinstimmung mit den Angaben Friedbergers über die Versuchsergebnisse bei wiederholter Extraktion, nur aus jenen Präzipitaten akut wirksame Giftstoffe gewinnen ließen, die auch das erstemal mit aktivem Meerschweinchen Serum in Berührung gestanden waren, während die Versuche mit jenen

Niederschlägen, die das erstemal mit inaktiviertem Meerschweinchenserum digeriert wurden, vollständig negativ verliefen.

B. Rinderserum.

VIII. Versuchsreihe.

Versuchsanordnung im Prinzip wie bei der VI. Versuchsreihe mit Pferdeserum.

	Inaktiviertes Rinderserum	Antirinderserum 27 ¹⁾
I	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	2 ccm
II	$\frac{1}{10}$ 2 "	2 "
III	$\frac{1}{10}$ 2 "	2 "

Überall nach 2 Stunden sehr starkes Präzipitat. Präzipitate I, II, III in einem Sammelrohr vereinigt, zentrifugiert, zweimal gewaschen. Dazu 5 ccm frischen unverdünnten Meerschweinchenserums. Thermostat 14 Stunden.

1. (39.) Meerschweinchenversuch.

19. XI. Temperatur vor der Injektion 37,9°.

11³⁵ Intravenöse Injektion von 4,3 der klaren Flüssigkeit. 5 Minuten aufgespannt. Sofort nach dem Abspannen lief das Tier wie besessen umher; blieb dann mit stark gestäubtem Haar ruhig sitzen; schüttelte sich am ganzen Körper. Dann traten Krämpfe auf in Form von hohen Sprüngen mit gespreizten Beinen.

11³⁷ Zittern. Momentane Ruckbewegungen.

11⁴⁰ Verhält sich wie ein normales Tier.

11⁴⁵ 36,2°.

3¹⁵ 36,9°.

5⁴⁵ 38,3°.

20., 21. XI. Ganz gesund.

Versuchsanordnung.

	Inakt. Rinderserum ($\frac{1}{10}$ Std. 56°)	Antirinderserum 27 inakt. ($\frac{1}{10}$ Std. 56°)
a	$\frac{1}{10}$ Verdünnung 2 ccm	+ 1 ccm
b	$\frac{1}{10}$ " 2 "	+ 2 "
c	$\frac{1}{50}$ " 2 "	+ 1 "
d	$\frac{1}{50}$ " 2 "	+ 2 "

Die Röhrchen a, b, c, d werden 1 $\frac{1}{2}$ Stunden bei 38° gehalten. Starke Präzipitation. Hierauf wurde stark zentrifugiert und die über den Präzipitaten stehende Flüssigkeit abgegossen. Zweimaliges Auswaschen der Präzipitate mit je 10 ccm NaCl-Lösung. Zusatz von je 4 ccm frischen, 5-fach

1) Kaninchen 27:

3. XI. 1 ccm inaktiviertes Rinderserum intravenös.

11. XI. Prüfung: $\frac{1}{1000}$ deutlich positiv, $\frac{1}{5000}$ negativ.

12. XI. Blutentnahme.

verdünnten Meerschweinchenserums. Aufschwemmung der Präzipitate und Zusammengießen von a, b, c, d in ein Sammelrohr. 40-stündiger Aufenthalt im Thermostaten. Oftmaliges, tüchtiges Schütteln.

2. (40.) Meerschweinchenversuch (17. XI. 10).

Abguß ziemlich stark getrübt und von deutlich fauligem Geruch.

Meerschweinchen, 250 g. Temperatur vor der Injektion 36°.

11⁴⁰ Intravenöse Injektion von 2,5 ccm. 10 Minuten aufgespannt.

11⁵⁰ Sitzt zusammengekauert mit gesträubtem Fell da.

11⁵⁵ Starkes Zittern. Auf Anstoß normale Fortbewegung.

12¹⁰ Temperatur 33,7°. Frißt Heu.

12³⁰ Läuft hin und her. Haare noch immer gestäubt.

12⁴⁵ Sitzt zitternd in einer Ecke. Kurzdauernde, ruckweisen Brechbewegungen ähnliche Muskelkrämpfe (bisher 6mal).

1⁴⁵ St. id. Matt, Augen halb geschlossen.

4° Beide Augen geschlossen, auf Anstoß keine Lokomotion.

4³⁰ Temperatur 36,7°.

5³⁰ Sehr matt und schwer krank; keinerlei krampfartige Erscheinungen.

18. XI. 9° Moribund. Nachmittags †.

Versuchsanordnung.

	Inaktiviertes Rinderserum	Antirinderserum 27
a	$\frac{1}{10}$ Verdünnung 2 ccm	+ 1 ccm
b	$\frac{1}{10}$ " 2 "	+ 2 "
c	$\frac{1}{50}$ " 2 "	+ 1 "
d	$\frac{1}{50}$ " 2 "	+ 2 "

Vorbehandlung wie oben; aber tunlichst steril, so daß das Meerschweinchenserum in den 4 Röhrchen noch nach 38 Stunden ganz klar war. Getrennte intravenöse Injektion von Meerschweinchenserum a, b, c, d in je 4 Meerschweinchen.

3. (41.) Meerschweinchenversuch (17. XI.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,5°.

12⁵⁵ Intravenöse Injektion von 3,8 ccm (a). 4 Minuten aufgespannt.

1° Sitzt zusammengekauert und zitternd da, mit mäßig gesträubtem Fell. Reichlicher Stuhlabgang.

1⁵ Auf Anstoß lebhafte Fortbewegung. Benimmt sich wie ein normales Tier.

1³⁰ 36,8°.

1³⁰ Sitzt ruhig in der Ecke und zittert. Atmung unverändert.

4° St. id.

18. XI. Zunehmende Mattigkeit. Leises Quieken. Am Abend: kann nicht mehr laufen. Verhält sich auf Anstoß ganz ruhig.

19. XI. †.

4. (42.) Meerschweinchenversuch (17. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,2°.

3¹⁸ Intravenöse Injektion von 2,8 ccm (b). Wenige Minuten aufgespannt.3¹⁷ 3 mal akute Krämpfe, wobei das Tier mit getreckten Beinen herumgeschleudert wird. Hierauf Zittern; auf Anstoß normale lebhaft Fortbewegung.3⁴⁶ 37,1°.

4° Alles vorüber.

4³⁰ Normales Befinden.

18. XI. 9° Normal, lebhaft.

Bleibt am Leben.

5. (43.) Meerschweinchenversuch (17. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 36,9°.

4⁴⁰ Intravenöse Injektion von 2,7 ccm (c). 10 Minuten aufgespannt. Sofort nach der Injektion mehrmals krampfartige, hüpfende Sprünge mit gestreckten Beinen.4⁵⁶, 5° Normales Befinden.5¹⁰ 37,2°.

18. XI. Zunehmende Mattigkeit. Wackelnder, langsamer Gang.

19. XI. Nachts †.

Versuchsanordnung.

Inakt. Rinderserum	Antirinderserum (42) ¹⁾	Frisches Meer- schweinchenserum	Thermost.
¹ / ₄₀ 10 ccm	10 ccm	13 ccm	21 Stdn.

6. (44.) Meerschweinchenversuch.

27. XI. Temperatur vor der Injektion 36,8°.

10⁵⁰ Intravenöse Injektion von 6 ccm. (Beide Jugularvenen; mäßiger Blutverlust.) 5 Minuten aufgespannt.10⁴⁸ Sitzt zusammengekauert mit gestäubtem Fell und auffallend keuchend-dyspnoischer Atmung da. Mehrmalige Ruckbewegungen.10⁴⁸ Schütteln und beschleunigte Atmung. Brechreiz (?). Bewegt sich stoßweise nach rückwärts.11⁸ Zittern. Zunehmende Mattigkeit.

1) Kaninchen 42:

3. XI. 10. Intravenöse Injektion von 1 ccm inakt. Rinderserums.

11. XI. Prüfung auf Präzipitin negativ.

12. XI. 1 ccm inakt. Rinderserum subkutan.

13. XI. 1 ccm inakt. Rinderserum intravenös.

21. XI. Prüfung: ¹/₁₀₀₀ positiv, ¹/₅₀₀₀ schwach positiv, ¹/₁₀₀₀₀ negativ.

24. XI. Entblutet.

11³⁰ Schwer krank. Augen halb geschlossen.

12²⁵ 37,2°. Erholt sich sichtlich.

12⁵⁵ Läuft lebhaft umher.

28. XI. vormittags. Schwer krank. Spastische Lähmung der beiden hinteren Extremitäten. Krampfhaft Hockstellung mit kyphotisch gekrümmtem Rücken. Auf Anstoß hüpfte das Tier mit steif angezogenen Hinterbeinen ähnlich wie ein Frosch.

1° 35,3°. Kopf des Tieres hängt ganz herunter, so daß der Unterkiefer den Boden berührt.

3⁴⁵ 28,1°. 4¹⁰ †.

7. (45.) Meerschweinchenversuch.

27. XI. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

11⁰⁵ Intravenöse Injektion von 4,6 ccm. 5 Minuten aufgespannt.

11¹⁰ Nichts Bemerkenswerthes.

11¹⁷ Mäßiges Zittern. Haare nicht gestäubt.

11³⁵ 37,1°. Normaler Eindruck.

28. XI. Sehr schwer krank. Der Kopf wird krampfhaft nach einer Seite hin gehalten.

12⁴⁰ 35°.

1³⁰ Auffallend starke Abduktion der Hinterbeine.

1⁴⁰ Unfähigkeit, sich fortzubewegen. Liegt dauernd am Bauch.

2¹⁵ Sehr ruhige, oberflächliche Atmung. Reflexe der Cornea erloschen.

2³⁰ †.

8. (46.) Meerschweinchenversuch.

Temperatur vor der Injektion 37,1°.

1³⁵ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Minuten aufgespannt.

1³⁹ Läuft umher.

1⁴⁰ Frißt gereichtes Heu.

1⁴⁵ Kein Zittern; keine gestäubten Haare.

2°, 2¹⁰ Normales Verhalten.

2¹² 37,6°.

29., 30. XI. Ganz gesund.

Versuchsanordnung.

Inakt. Rinderserum	Antirinderserum (gemischt)	Frisches Meer- schweinchenserum	Thermostat
1/10 10 ccm	10 ccm	6 ccm	20 Stunden

9. (47.) Meerschweinchenversuch (2. XII. 10).

Flüssigkeit: dunkelrot, etwas trüb, aber geruchlos.

Temperatur 37,5° vor der Injektion.

4⁵ Intravenöse Injektion von 4,5 ccm. 5 Minuten aufgespannt.

4¹⁰ Haare gestäubt.

4¹⁵ Sitzt zusammengekauert, mit stark beschleunigter Atmung in einer Ecke.

4³⁰ Zittert.

4³⁰ St. id. Sehr frequente Atmung.

4³⁸ 35,7°.

4³⁸ Schüttelt sich einigemal am ganzen Körper.

4⁴² Macht schwerkranken Eindruck.

3. XII. Ganz erholt.

Versuchsordnung.

Inakt. Rinderserum	Antirinderserum (37) ¹⁾	Frisches Meer- schweinchenserum	Thermost.
¹ / ₄₀ 10 ccm	10 ccm	12,5 ccm	22 Stdn.

10. (48.) Meerschweinchenversuch.

27. XI. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

11⁴⁵ Intravenöse Injektion von 4,3 ccm. 6 Minuten aufgespannt.

12¹ Sitzt ruhig. Sehr beschleunigte Atmung.

12¹⁰ Bisher weder Zittern, noch gestäubte Haare.

12²⁰ Keinerlei Erscheinungen.

12³⁵ 38,2°.

Andauernd normal und gesund (28., 29., 30. XI.).

11. (49.) Meerschweinchenversuch.

27. XI. Temperatur vor der Injektion 37,9°.

11⁴⁵ Intravenöse Injektion von 6 ccm. (Beide Ven. jugul., Blutverlust ca. 3 ccm.) 7 Minuten aufgespannt.

11⁵⁰ Sitzt zusammengekauert da. Haare stark gestäubt. Auf Anstoß keine Fortbewegung. Zittert. Krampfartige Rückwärtsbewegungen.

11⁵² Zweimal krampfartige Zuckungen am ganzen Körper.

12⁰ Zittern. Augen halb geschlossen. Macht schwerkranken Eindruck.

12¹⁵ Erholt sich allmählich. Frißt gereichtes Heu. Läuft umher.

12²⁰ 37,2°.

28., 29., 30. XI. Ganz gesund.

Versuchsordnung (Kontrolle).

Rinderserum inakt.	Antirinderserum 37	Inakt. Meer- schweinchenserum	Thermostat
¹ / ₄₀ 10 ccm	10 ccm	13 ccm	20 Stdn.

1) Kaninchen 37:

3. XI. 1 ccm inakt. Rinderserum intravenös.

11. XI. Prüfung negativ.

12. XI. 1 ccm inakt. Rinderserum subkutan.

13. XI. 1 ccm inakt. Rinderserum intravenös.

21. XI. Prüfung: ¹/₁₀₀₀ deutlich positiv, ¹/₅₀₀₀ schwach positiv, ¹/_{10 000} schwach positiv, ¹/_{100 000} negativ.

24. XI. Entblutet.

12. (50.) Meerschweinchenversuch.

Temperatur vor der Injektion 37,9°.

1¹⁰ Intravenöse Injektion von 6 ccm. (Beide Jugularisvenen.) 6 Minuten aufgespannt.1¹⁶ Zittern. Gestäubtes Haar. Sitzt zusammengekauert da.1²⁰ Putzt und kratzt sich. Reichlicher Stuhlabgang.1³⁰ Erholt sich allmählich. Zittert aber noch immer.1⁴⁰ Normaler Befund.1⁴⁵ 37,8°.

29., 30. XI. Normales Verhalten.

In der VIII. Versuchsreihe mit inaktivem Rinderserum lassen sich 2 Gruppen unterscheiden, indem die Versuche 1—6 in ihrer Anordnung den von Friedberger als günstig erkannten Mischungsverhältnissen entsprechen, während in der zweiten Gruppe 6—12 vielleicht doch mit allzugroßen Haptinmengen, insbesondere — zum Teil wenigstens — mit zu großen Antiserumdosen gearbeitet wurde. Möglicherweise stehen damit die besseren Resultate der 1. Gruppe in Zusammenhang.

Deutlich positiv verliefen die Versuche 1, 4, 5; schwach positiv die Versuche 2 und 11; negativ die Versuche 3, 9, 10.

Die Versuchsergebnisse bei 6 und 7 möchten wir aber doch auch als positiv bezeichnen. Zwar entsprechen sie nicht dem gewöhnlichen Typus des anaphylaktischen Grundversuches; jedoch haben wir zu wiederholten Malen ganz das gleiche Verhalten auch gelegentlich aktiver Anaphylaxieversuche an Meerschweinchen, und zwar sowohl bei Rinderserum als auch besonders bei Pferdeserum beobachtet.

Die beiden Kontrollversuche verliefen wiederum vollständig negativ. Selbst die Temperatur blieb auf gleicher Höhe stehen wie vor der Injektion.

IX. Versuchsreihe

mit frischem, aktivem Antigen und wiederholter Extraktion.

Versuchsanordnung:

E. Aktives Rinderserum 1/10 2 ccm	Inakt. (15 Min.) Antirinderserum 2 ccm	Frishes Meerschweinchenserum 4 ccm
	Kontrolle:	
F. Aktives Rinderserum 1/10 2 ccm	Inakt. (15 Min.) Antirinderserum 2 ccm	Inaktives Meerschweinchenserum 2 ccm

Nach 3-stündigem Aufenthalt im Thermost. reichliche Präzipitatbildung. Kontaktdauer mit frischem resp. inakt. Meerschweinchenserum 24 Stunden. Zum Waschen wurde 0,5-proz. Karbolkochsalzlösung verwendet.

1. (51.) Meerschweinchenversuch mit E. (Hauptversuch) (13. I. 11.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,8°.

12¹⁷ 3,7 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

12¹⁸ Schleppt sich mühsam vorwärts. Kopf gestreckt. Fällt um, erhebt sich aber gleich wieder. Sprünge mit gestreckten Vorderbeinen. Fällt zur Seite.

Blitzartige, typische Krämpfe von großer Intensität. Sprünge. Atmung steht zeitweise still. Cornealreflex vorhanden.

12²⁰ Liegt mit gestreckten Beinen da. Atmung sehr beschleunigt, stoßweise.

12²² Temperatur 35,5°.

12²⁴ Atmung besser. Erholt sich etwas.

12²⁷ Zusammengekauert, gesträubtes Fell.

12²⁸ Läuft auf Anstoß normal.

12²⁹ Matt, halbgeschlossene Augen.

12³⁴ Temperatur 36,5°. Schwerkrank.

14. I. Gesund, bleibt am Leben.

2. (51.) Meerschweinchenversuch mit F. (Kontrolle) (13. I. 11.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37°.

12²⁶ 3,7 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt, ca. 3 ccm Venenblut verloren.

12³⁰ Normal, lebhaft.

12³⁴ Schüttelt sich öfters. Putzt sich.

12³⁷ Haare gestäubt.

12⁴⁵ Bisher keine Erscheinungen.

12⁵⁷ Temperatur 36,2°.

14. I. Gesund, bleibt am Leben.

Die Niederschläge¹⁾ E. und F. wurden zweimal gewaschen und dann nochmals mit je 4 ccm frischen Komplements versetzt. Extraktionsdauer 22 Stunden.

3. (53.) Meerschweinchenversuch mit E. (II. Extraktion) (15. I. 11.).

Flüssigkeit: rötlich, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,7°.

1¹⁰ 3,5 ccm intravenös. 6 Min. aufgespannt. Läuft schnell herum; zeigt beschleunigte, stoßweise Atmung. Ruckbewegungen.

1¹² Schüttelt sich stark.

1) Im mikroskopischen Ausstrichpräparate keine Bakterien sichtbar.

- 1¹⁸ Sitzt zusammengekauert mit gestäubtem Haar da. Ruckbewegungen wiederholen sich.
 1¹⁸ Läuft auf Anstoß ganz normal umher.
 1²⁸ Keinerlei Erscheinungen.
 1³⁰ Temperatur 33,7°. Normal.
 17. I. Gesund. Bleibt am Leben.

4. (54.) Meerschweinchenversuch mit F. (II. Extraktion) (15. I. 11).

Flüssigkeit: gelblich, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

- 12³⁸ 3,5 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt. Läuft normal umher.
 1⁰ Wird schwach, schleppt beim Gehen die Hinterbeine etwas nach.
 1¹⁸ Zusammengekauert, gestäubte Haare. Schwerkrank. Schüttelt sich.
 1¹⁹ Auf Anstoß mühsame, langsame Fortbewegung. Halbgeschlossene Augen.
 1²⁸ Temperatur 33,8°.

17. I. † in der Nacht.

Obduktion ohne Befund. Lunge und Herz negativ.

Mikroskopische Untersuchungen beider Niederschläge nach der II. Extraktion: Unzählige Bakterien, besonders vom Typus der Diplokokken.

Versuchsordnung:

J. Aktives Rinderserum 1/10 2 ccm	Inaktives Antirinderserum 2 ccm	Frisches Meerschweinchenserum 4 ccm
Kontrolle:		
K. Aktives Rinderserum 1/10 2 ccm	Inaktives Antirinderserum 2 ccm	Inaktives Meerschweinchenserum 4 ccm

Nach 2-stündigem Aufenthalt im Thermostat. ziemlich reichliches Präzipitat. Waschen. Kontaktdauer mit frischem resp. inakt. Meerschweinchenserum 21 Stunden im Thermostat.

5. (55.) Meerschweinchenversuch mit J. (Hauptversuch) (19. 9. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 150 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

- 5³⁰ 3 ccm intravenös. Ca. 11 Min. aufgespannt.
 5³⁵ Zittern. Ruckbewegungen. Haare gestäubt. Beschleunigte Atmung.
 5³⁷ Rückwärtsbewegung, aber keine Krämpfe.
 5⁴⁵ Zusammengekauert mit halbgeschlossenen Augen.
 5⁵⁵ Temperatur 35,6°.

Erholt sich, gesund. Bleibt am Leben.

6. (56.) Meerschweinchenversuch mit K. (Kontrolle) (19. I. 11).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 160 g. Temperatur vor der Injektion 37,3°.

5⁴⁶ 3 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

5⁴⁰ Matt. Keinerlei Erscheinungen.

5⁴⁵ Lebhaft und munter. Kein Zittern.

5⁵⁰ Gestäubte Haare; sonst nichts.

6° Temperatur 36,0°.

Gesund, bleibt am Leben.

Nach 2-maligem Waschen der Präzipitate abermalige Extraktion von J. und K. mit je 4,5 ccm frischen Meerschweinchenserums.

7. (57.) Meerschweinchenserum mit J. (II. Extraktion) (22. I. 11).

Flüssigkeit: gelbrot, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 150 g. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

12⁴⁶ 2,7 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt. Stoßweise Atmung.

12⁷ Schleppt sich langsam von der Stelle. Pfeift und quiekt laut.

12¹⁵ Sieht schwer krank aus; aber keinerlei Krampferscheinungen.

12³⁶ Erholt.

1° Temperatur 35,1°.

Gesund, bleibt am Leben.

8. (58.) Meerschweinchenversuch mit K. (II. Extraktion) (22. I. 11).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 150 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

12⁵⁶ 2,7 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Gleich nach der Abspaltung heftige typische Streckkrämpfe und Sprünge. Schwerste Dypnoe.

12⁵⁹ Unter Erstickungserscheinungen †.

Obduktion: Lungenbefund stark positiv, Herzbefund positiv.

In dieser Reihe hatten wir unter 8 Versuchen 2 positive Ergebnisse: Versuche 1 und 8.

Das klassische Ergebnis bei 8 widerspricht, im Gegensatz zu unseren Pferdeserumversuchen (s. p. 605/06), den Angaben von Friedberger, wonach sich aus Präzipitaten, die das erstemal mit inaktiviertem Meerschweinchenserum in Kontakt gestanden waren, bei wiederholter Extraktion mit frischem Komplement kein Giftstoff gewinnen lassen soll und macht somit die wenig ansprechende Komplementoidverstopfungstheorie überflüssig.

Merkwürdigerweise verzeichneten wir mit dem stark giftigen Rindereserum in 14 Hauptversuchen einen einzigen akuten Todesfall, und zwar eben den in Versuch 8.

Anhangsweise seien noch einige Versuche des Frl. Dr. Wahl mitgeteilt, die bereits im Juni v. J. angestellt wurden und durchweg zu positiven Ergebnissen führten. Akuter Tod wurde allerdings auch in dieser Reihe nicht beobachtet.

Versuchsanordnung:

6 ccm Antirinderkaninchenserum¹⁾ (W) + 6 ccm Zehntelrinderserum. 2 Stunden im Brutschrank. Geringes Präzipitat. Dann bleibt es 20 Stunden im Frigo, wird zentrifugiert und 2mal mit großen Mengen physiol. Kochsalzlösung gewaschen. Darauf wird wieder zentrifugiert und 6 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt. Das Gemisch bleibt 5 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, dann wird abzentrifugiert und von dem Serum wird einem Meerschweinchen intravenös 2,3 ccm Meerschweinchenserum injiziert.

9. (59.) Meerschweinchenversuch (? VI. 10.)

Temperatur vor der Injektion 37,0° C.

4¹⁰ p. m. Injektion. Tier sofort schwer krank, zittert, schreit, macht Sprünge nach rückwärts, friert sichtlich.

4²⁰ Temperatur 35,7° C. Tier immer noch krank.

4⁴⁰ Tier zittert noch, ist aber sonst munter und läuft herum.

4⁵⁰ Temperatur 37,6° C.

5° Temperatur 35,0° C. Seit der letzten Messung sitzt das Tier schwer krank und teilnahmslos an einem Fleck und atmet schwer. Sträubt die Haare.

5⁰⁰ Parese der Hinterbeine.

Stirbt in der Nacht.

Versuchsanordnung:

6,6 ccm Antirinderkaninchenserum (W) + 2,5 ccm Rinderserum + 6 ccm physiol. Kochsalzlösung. 1 Stunde im Brutschrank. Dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Starkes Präzipitat. Weitere Behandlung wie oben. Zum Präzipitat kommen 11 ccm frisches Meerschweinchenserum, und das Gemisch bleibt 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Dann wird abzentrifugiert, und das Serum wird folgendermaßen verwendet:

10. (60.) Meerschweinchenversuch (? VI. 10.)

Meerschweinchen, 210 g, erhält:

6⁴⁰ p. m. Intravenöse Injektion von 2 ccm Serum. Temperatur vor der Injektion 37,4° C.

6⁴⁵ Tier sträubt das Fell, auf die Seite gelegt, kann es sich nicht erheben. Starke Krämpfe.

6⁴⁸ Tier wirft sich auf die Seite, noch einzelne Zuckungen.

1) Titer: $\frac{1}{150\,000}$.

- 6⁴⁶ Hinten gelähmt.
 6⁴⁹ Tier scheint sich wieder zu erholen. Richtet sich auf, zieht die Beine ein.
 6⁵⁴ Läuft herum, bewegt sich unruhig, macht aber immer noch einen schwerkranken Eindruck.
 6⁵⁶ Atmet schwer, läßt den Kopf auf die Seite sinken.
 6⁵⁹ Temperatur 33,8° C.
 7¹⁵ Tier noch krank.
 Bleibt am Leben.

11. (61.) Meerschweinchenversuch.

Meerschweinchen, 210 g, erhält:

- 6⁵⁵ Intravenöse Injektion von 3 ccm Meerschweinchenserum. Temperatur vor der Injektion 37,2° C.
 6⁵⁷ Sträubt das Fell, bewegt sich nach rückwärts. Atmung frequent und heftig.
 7° Schwer krank, wehrt sich aber heftig bei dem Versuch, es auf den Rücken zu legen und gelangt sofort wieder auf die Beine.
 7³ Temperatur 33,5° C.
 7¹² Tier wird munterer und läuft herum.
 7¹⁸ Tier noch krank.
 Bleibt jedoch am Leben.

Ueber weitere Anaphylatoxinversuche mit Rinderserum s. p. 647.

C. Hühnereiweiß.

X. Versuchsreihe.

Versuchsanordnung (vom Mai 1910).

6 ccm Antihühnereiweiß¹⁾ (W) + 2,5 ccm Hühnereiweiß + 3,6 ccm Kochsalzlösung. 1 Stunde im Thermostaten, dann über Nacht bei Zimmertemperatur. Bodensatz 2mal gewaschen, zentrifugiert. Dazu 11 ccm Meerschweinchenkomplement, und das Gemisch bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Am nächsten Tag zentrifugiert und Serum abgegossen.

1. (62.) Meerschweinchenversuch (? V. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 300 g, erhält:

- 6³⁸ p. m. Injektion von 3 ccm Meerschweinchenserum. Temperatur vor der Injektion 37,0° C.
 6⁴⁰ Tier scheint vollständig gesund zu sein, läuft umher.
 6⁴² Temperatur 35,5°.
 6⁴⁴ Tier munter.
 6⁴⁵ Tier munter.
 Bleibt am Leben.

1) Titer: $\frac{1}{1000\ 000}$.

2. (63.) Meerschweinchenversuch (? V. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 300 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°. Die Injektion zog sich über 20 Minuten hin wegen Enge der Jugularis. Die Hälfte mußte schließlich in die Carotis injiziert werden.

7¹⁵ p. m. Beendigung der Injektion von 3,7 ccm Meerschweinchen-serum. Tier etwas betäubt durch die lange Aufspannung, erholt sich allmählich.

7³⁰ Tier läuft herum, schnuppert.

7³⁰ Temperatur 34,0° C.

Bleibt am Leben.

Versuchsanordnung:

Hühnereiweiß (roh)	Antihühnereiweiß (15) ¹⁾	Frisches Meer- schweinchen-serum	Thermostat
¹ / ₁₀ 10 ccm	10 ccm	7 ccm	19 Std.

3. (64.) Meerschweinchenversuch (30. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,7°.

2⁴⁵ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 5 Min. aufgespannt.

2⁵⁰ Sofort nach der Injektion sehr ausgesprochene Krampferscheinungen. Blitzartige Streckkrämpfe der Extremitäten, wobei der Oberkörper in die Höhe schnellte. Temperatur 35,1°. Legt sich auf die Seite. Atmung tief, aber langsam.

2⁵⁵ Tier erholt sich einigermaßen.

3° Fell stark gestäubt, sitzt ruhig da.

3⁵ Bewegt sich langsam und wackelnd.

3¹⁵ 35,9°. Fast normal.

4²⁵ 37,6°. Gesund.

1. XII. Gesund.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (15)	Inakt. Meersch.-Serum	Thermost.
¹ / ₁₀ 10 ccm	10 ccm	6,5 ccm	16,5 Std.

4. (65.) Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (40. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,4°.

2⁵⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Min. aufgespannt.

1) Kaninchen 15:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm Hühnereiweiß (ää NaCl-Lösung).

5. XI. Wie 3. XI.

11. XI. Ebenso.

19. XI. Prüfung: Bis über ¹/_{100.000} deutlich positiv.

20. XI. Blutentnahme.

2⁵⁵, 3⁰, 3⁷ Gar keine Erscheinungen. Ganz munter.

3³⁰ 36,9°.

5⁰ Normales Befinden.

1. XII. In der Nacht † (?).

Versuchsordnung:

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (26) ¹⁾	Frisches Meer- schweinchenserum	Thermostat
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	7 ccm	24 Std.

5. (66.) Meerschweinchenversuch (7. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 250 g. Temperatur vor der Injektion 37,7°.

12⁴⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Min. aufgespannt.

12⁴⁵ Beschleunigte Atmung. Oefters momentane Ruckbewegungen.

12⁴⁸ Sitzt zusammengekauert in einer Ecke. Fell nicht gestäubt.

12⁵⁵ Normaler Eindruck. Bewegt sich auf Anstoß lebhaft vorwärts.

1¹² 34,9°.

8. XII. † in der Nacht.

Versuchsordnung.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (26)	Frisches Meersch.-Ser.	Thermost.
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	24 Std.

6. (67.) Meerschweinchenversuch (7. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 38° C.

12⁵⁵ Intravenöse Injektion von 4,5 ccm (ca. 3 ccm Blut verloren).
6 Minuten aufgespannt.

12⁵⁷ Stoßweise Atmung. Vereinzelte Ruckbewegungen.

1⁰ Auf Anstoß keine Reaktion.

1¹⁰ Sitzt ganz ruhig und zusammengekauert mit gestäubtem Haar da.

1³⁵ 36,2°. Keine Erscheinungen.

8. XII. † in der Nacht.

1) Kaninchen 26:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm Hühnereiweiß (ää NaCl-Lösung).

5. XI. 5 ccm subkutan.

8. XI. 5 ccm subkutan.

11. XI. 5 ccm subkutan.

19. XI. Prüfung: Bis über $\frac{1}{100000}$ positiv.

20. XI. Blutentnahme.

Versuchsordnung:

Hühnereiweiß (roh)	Antihühnereiweißserum (35) ¹⁾	Frisch. Meersch.-Ser.
$\frac{1}{100}$ 5 ccm	5 ccm	5 ccm

7. (68.) Meerschweinchenversuch (21. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 38°.

5⁰⁰ Intravenöse Injektion von 3 ccm der klaren Flüssigkeit. 12 Min. aufgespannt.

6⁰⁰ Vollkommen normales Befinden.

6³⁰ 37,1°.

27., 29., 30. XI. Andauernd gesund.

Versuchsordnung.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (35)	Frisches Meersch.-Ser.	Thermost.
10 ccm	10 ccm	6 ccm	18 $\frac{1}{2}$ Std.

5. (69.) Meerschweinchenversuch (4. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 36,8°.

11¹⁵ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 5 Minuten aufgespannt.

11¹⁰ Sehr beschleunigte Atmung. Vereinzelte Würgebewegungen. Frösteln. Blitzartige Zuckungen am ganzen Körper.

11²⁵ 35,5°.

11³⁰ Hat sich erholt. Munter.

5. XII. Gesund.

Versuchsordnung.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (35)	Frisches Meersch.-Ser.	Thermost.
$\frac{1}{1}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	17 Std.

9. (70.) Meerschweinchenversuch (4. XII. 10).

Flüssigkeit: dunkel, Spur getrübt, aber ohne Geruch.

Temperatur vor der Injektion 36,5°.

12⁰⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Minuten aufgespannt.

12⁰⁵ Atmung beschleunigt.

12⁰⁵ Sonst keinerlei Erscheinungen. 36°. Macht gesunden Eindruck.

5. XII. † in der Nacht.

1) Kaninchen 35:

3. XI. Intravenöse Injektion von 1 ccm Hühnereiweiß (ää NaCl-Lösung).

5. XI. 5 ccm subkutan.

8. XI. 5 ccm subkutan.

11. XI. 5 ccm subkutan.

19. XI. Prüfung: Bis über $\frac{1}{100\ 000}$ positiv.

20. XI. Blutentnahme.

Versuchsanordnung.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (35)	Frisches Meersch.-Serum	Therm.
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	18 Std.

10. (71.) Meerschweinchenversuch (4. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,1.

12⁴⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm.

1⁵ Keine Erscheinungen.

1¹⁰ 37,8°. Lebhaft, normal.

5. XII. Große Mattigkeit, aber keinerlei krampfartige Erscheinungen.

6. XII. St. id.

7. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (35)	Frisches Meersch.-Serum	Therm.
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	20 Std.

11. (72.) Meerschweinchenversuch (2. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,4°.

3⁴⁰ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Min. aufgespannt. (Während der Operation durch ein Versehen ca. 10 ccm Blut verloren.)

Während der Injektion erschwertes stoßendes Atmen. †.

Hühnereiweiß	Antihühnereiweiß (35)	Inakt. Meersch.-Serum	Therm.
$\frac{1}{10}$ 10 ccm	10 ccm	6 ccm	20 Std.

12. (73.) Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (2. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,4.

4³⁸ Intravenöse Injektion von 4,5 ccm. 3 Minuten aufgespannt.

4⁴¹ Gar keine Erscheinungen.

4⁴⁷ Ganz gesund. Läuft lebhaft umher.

5° 36,2°.

7° Dauernd normal.

Die Hühnereiweißversuche ergaben fast durchweg negative Resultate. Deutlich positiv war nur Versuch 3, schwach positiv vielleicht Versuch 8. Versuch 11 ist nicht beweisend.

Die 2 Kontrollen, wobei die Präzipitate mit inaktiviertem Meerschweinchen Serum digeriert wurden, verliefen wiederum vollständig negativ.

XI. Versuchsreihe mit in Soda aufgelösten Hühnereiweißpräzipitaten.

Versuchsanordnung.

10 ccm Hühnereiweiß + 10 ccm inaktives Antihühnereiweiß kamen auf 3 Std. in den Thermostaten. Sehr reichliche Präzipitatbildung. 3mal Waschen des abzentrifugierten Niederschlages mit NaCl-Lösung und Auflösen in 5-proz. Sodalösung. Nach etwa 40 Min. langem Erwärmen bei 56° C haben sich ungefähr $\frac{2}{3}$ des Niederschlages aufgelöst. — Die klar abzentrifugierte Flüssigkeit diente zur Injektion.

1. (74.) Meerschweinchenversuch (4. XII. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,3°.

10⁴⁵ Intravenöse Injektion von 5 ccm.

† Während der Injektion wird das Tier sehr unruhig und stirbt am Operationstisch, nachdem 3 ccm injiziert wurden.

6 ccm Hühnereiweiß + 3,5 ccm Antihühnereiweiß (15). Thermostat 3 Std. Sehr reichliches Präzipitat. 3mal Waschen des abzentrifugierten Niederschlages mit NaCl-Lösung und Auflösen in 14 ccm 5-proz. Sodalösung. Nach halbstündigem Erwärmen der Flüssigkeit auf 50° hat sich ungefähr $\frac{2}{3}$ des Niederschlages aufgelöst. (Das Röhrchen stand hierauf über 20 Std. bei Zimmertemperatur.) — Abzentrifugierte Injektionsflüssigkeit, ganz klar.

2. (75.) Meerschweinchenversuch (A) (6. XII. 10).

† während der intravenösen Injektion (von 4 ccm).

3. (76.) Meerschweinchenversuch (B) (6. XII. 10).

Temperatur vor der Injektion 38,1°.

5³⁰ Intravenöse Injektion von 2 ccm.

5³⁵ Keinerlei Erscheinungen. Lebhaft, munter.

5⁵⁰ 38,7°

Andauernd gesund (7., 8. XII.).

Die beiden akuten Todesfälle in der X. Versuchsreihe erforderten die Anstellung einer Kontrolle, wobei Sodalösung allein intravenös injiziert wurde.

4. (77.) Meerschweinchenversuch (6. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 37,8°.

5¹⁵ Intravenöse Injektion von 5 ccm 5-proz. Sodalösung. † während der Injektion.

5. (78.) Meerschweinchenversuch (24. XI. 10).

Temperatur vor der Injektion 36,8°.

- 12⁰ Intravenöse Injektion von 4 ccm steriler 3-proz. Sodalösung 6 Min aufgespannt.
 - 12⁵ Akute Krankheitserscheinungen. Gestäubte Haare, leises Quieken.
 - 12⁷ Ruckweise Muskelkrämpfe.
 - 12¹⁰ Starkes Zittern. Bürstenförmig abstehende Haare.
 - 12¹⁵ Wiederholt reichlicher Stuhlabgang.
 - 12⁴⁰ Tier hat sich sichtlich erholt.
 - 1⁰ Gesund.
- 29., 30. XI. Gesund.

Die Kontrollversuche zeigen, daß 5-proz. Sodalösung in einer Menge von 5 ccm intravenös injiziert an und für sich akut tödlich wirkt, während 4 ccm einer 3-proz. Lösung deutlich Krankheitserscheinungen hervorruft.

D. Kuhmilch.**XII. Versuchsreihe.****Versuchsanordnung:**

6,6 ccm Antimilchserum (W)¹⁾ + 2,5 ccm entfettete Milch + 6 ccm physiol. Kochsalzlösung. 1 Std. in den Brutschrank, dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Bodensatz wird in der üblichen Weise gewaschen und zentrifugiert. Dazu kommen 11 ccm Meerschweinchenkomplement und das Gemisch bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Am nächsten Tag wird zentrifugiert und das Serum abgegossen.

1. (79.) Meerschweinchenversuch (3. VI. 10).

Meerschweinchen, 370 g, erhält:

- 12³⁸ Intravenös 3 ccm M.-S. Temperatur vorher 37,5° C.
 - 12³⁸ Tier ist vollständig munter, putzt sich.
 - 12⁴⁵ Temperatur 36,4° C. Tier schnuppert, läuft herum, bietet nichts Besonderes.
- Bleibt am Leben.

2. (80.) Meerschweinchenversuch (13. VI. 10.)

Meerschweinchen, 380 g, erhält:

- 12⁵² 2,4 ccm Serum intravenös. Temperatur vorher 37,1° C.
 - 1⁰ Tier ist vollständig munter, läuft herum, frißt. Temp. 36,5° C.
- Bleibt am Leben.

1) Titer: $\frac{1}{4000}$.

Versuchsanordnung.

Inakt. Kuhmilch	Antikuhmilchser. D ₃ ¹⁾	Frisches Meerschweinchenserum	Thermost.
$\frac{1}{10}$ 8 ccm	4 ccm	4 ccm	24 Std.

3. (81.) Meerschweinchenversuch (21. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,9°.

5³⁷ Intravenöse Injektion von 2,5 ccm der klaren Flüssigkeit. 7 Min. aufgespannt.5³⁸ Läuft umher wie ein ganz normales Tier.5⁴⁰ Zittert. Einige krampfartige Ruckbewegungen. Haare nicht gestäubt.6¹⁰ 35,8° (?).6³⁰ Normales Befinden.6³⁰ 37,2°.

22., 27., 30. XI. Ganz gesund.

Versuchsanordnung.

Inakt. Kuhmilch	Antikuhm.-S. D ₃	Frisches Meer- schweinchenser.	Frigo	Zimmertemp.
$\frac{1}{8}$ 10 ccm	10 ccm	5,3 ccm	14 Std.	6 $\frac{1}{2}$ Std.
			$\underbrace{\hspace{1.5cm}}_{20\frac{1}{2} \text{ Std.}}$	

4. (82.) Meerschweinchenversuch (30. XI. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,7°.

4³⁸ Intravenöse Injektion von 5 ccm. 4 Min. aufgespannt.4⁴² Dyspnoe. Kratzt sich viel.4⁴³ Typische blitzartige Extremitätenkrämpfe. Sehr beschleunigte Atmung. Kopf wird nach einer Seite gestreckt gehalten.4⁴⁵ Besser.4⁵⁰ 35,2°.5¹⁰ 35,9° — Hat sich vollständig erholt. Munter.

1. XII. Gesund, bleibt am Leben.

1) Kaninchen D₃:

3. XI. Subkutane Injektion von 3 ccm roher Kuhmilch.

5. XI. 5 ccm subkutan.

8. XI. 5 ccm subkutan.

11. XI. 5 ccm subkutan.

19. XI. Prüfung: bis über $\frac{1}{1000}$ positiv.

20. XI. Blutentnahme.

XIII. Versuchsreihe mit roher Kuhmilch als Antigen.

Versuchsanordnung:

	Rohe Kuhmilch	Inakt. Antimilchser.	Frisches Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	2 ccm	4 ccm
Kontrolle:	Rohe Kuhmilch	Inakt. Antimilchser.	Inakt. Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	2 ccm	4 ccm

Nach 2 $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte im Thermostat reichliches Präzipitat. Waschen. Zusatz von frischem resp. inakt. Meerschweinchenserum. Kontaktdauer 24 Std. im Thermostat.

5. (83.) Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (7. I. 11).

Flüssigkeit: dunkelgelb, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,9°.

- 4³ 3,7 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt. — Läuft herum. Beschleunigte stoßweise Atmung. Gesträubtes Fell.
- 4⁵ Ruckbewegungen.
- 4⁷ Lebhaft und kräftig; nur sehr beschleunigte Atmung.
- 4²⁰ Keine Erscheinungen.
- 4²⁴ Temperatur 33,6°.

Erholt sich vollständig. Bleibt gesund am Leben.

6. (84.) Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (7. I. 11).

Flüssigkeit: dunkelgelb, klar; leichter Fäulnisgeruch angedeutet.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,8°.

- 4¹⁸ 3,7 ccm intravenös, 5 Min. aufgespannt. — Läuft schnell umher.
- 4¹⁸ Zusammengekauert. Ruckbewegungen.
- 4²² Gesträubtes Fell.
- 4²⁰ Keine Erscheinungen.
- 4²⁷ Temperatur 36°. — Sehr geschwächt.

Bleibt am Leben.

Ergebnis: Von den 6 Kuhmilchversuchen zeigten 5 ein negatives und nur einer (Versuch 4) ein positives Resultat.

IV. Anaphylatoxinversuche mit Typhus und Pseudodysenterie A.

Typhus.

XIV. Versuchsreihe.

Versuchsanordnung:

Typhus ¹⁾	Antityphusser. A ²⁾	Frisch. Meerschweinchenser.	Thermost.
12 ccm	3 ccm	5,5 ccm	18 Std.

1. (85.) Meerschweinchenversuch (15. XII. 10).

Flüssigkeit: fast klar, geruchlos.

280 g. Temperatur vor der Injektion 38,2°.

12³⁰ 3,5 ccm intravenös. 7 Min aufgespannt.

1⁰ Lebhaft, munter, sieht gesund aus.

1³⁰ 37,2°.

16. XII. 10 Uhr. Sehr schwach. Spastische Stellung beider Hinterbeine. Kyphotische Krümmung der Wirbelsäule. Der Kopf des Tieres hängt nach rechts hinab. Auf Anstoß hüpfte das Tier mit ganz steifen und gespreizt gehaltenen Hinterbeinen, wie ein Frosch vorwärts („Froschphänomen“).

17. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung:

Typhus	Antityphusserum A	Frisches Meerschweinchenserum	Thermost.
10 ccm	5 ccm	5,5 ccm	18 Std.

2. (86.) Meerschweinchenversuch (15. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, nicht übelriechend.

240 g. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

1⁰ Intravenöse Injektion von 3,5 ccm. 6 Min. aufgespannt.

1¹⁵ Schwerkrank. Zittert, schüttelt sich am ganzen Körper. Beide Augen fast ganz geschlossen.

1⁴⁰ 35,9°.

15. XII. Ganz erholt. — Bleibt am Leben.

1) Herstellung des Präzipitinogens: 24-stündige Bouillonkultur im Erlenmeyerkolben. Dazu tropfenweise 1 ccm Formalin; hierauf noch 2-stündiger Aufenthalt im Thermostat. — Die Bacillen waren abgetötet; eine vollständige Klärung der Flüssigkeit trat aber auch nach längerem Stehenlassen im Frigo nicht ein.

2) Kaninchen A:

17. XI. Typhusbacillenemulsion von einer Schrägagarkur in 10 ccm NaCl-Lösung inaktiv. — 5 ccm davon intraperitoneal.

22. XI., 27. XI., 2. XII. Ebenso.

9. XII. Prüfung auf Agglutination: Bis $\frac{1}{5000}$ stark positiv, $\frac{1}{5000}$ schwach positiv.

Versuchsanordnung:

Typhus	Antityphusserum A	Frisches Meerschweinchenserum	Thermost.
12 ccm	12 ccm	12 ccm	40 Std.

3. (87.) Meerschweinchenversuch (18. XII. 10).

Flüssigkeit: zartest getrübt, ohne üblen Geruch.

300 g. Temperatur vor der Injektion 38,4°.

11⁴⁵ 4 ccm intravenös. 5 Min aufgespannt.

Während der Injektion große Unruhe und † am Operationsbrett.

4. (88.) Meerschweinchenversuch (8. XII. 10).

Flüssigkeit: wie oben.

300 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

11⁵⁰ 4 ccm intravenös. 10 Min. aufgespannt.

11⁵⁵ Kolossale Schwäche. Das Tier kann sich nicht bewegen. Fällt um. Atmung keuchend und tief.

11⁵⁸ Atmung sistiert vollständig. (Expiratorische Apnoe.) (Kein Kornealreflex.) Totale Kraftlosigkeit, so daß der Exitus erwartet wurde. Plötzlich erfolgt eine langsame und tiefe Inspiration, der mehrere beschleunigte Atemzüge folgten.

12³ Cornealreflex wieder auslösbar. Pupillen erweitert.

12⁵ Beginnt sich zu erholen.

12⁹ Läuft umher.

12¹⁸ Sitzt zusammengekauert mit stark gestäubten Haaren in der Ecke.

12³⁰ Macht schwerkranken Eindruck.

12³⁵ 33,7°.

Bleibt am Leben.

Typhus	Antityphusserum A	Inakt. Meerschweinchenserum	Thermost.
12 ccm	12 ccm	12 ccm	40 Std.

5. (89.) Meerschweinchenversuch (Kontrollversuch) (19. XII. 10).

Flüssigkeit: wie oben.

300 g. Temperatur vor der Injektion 37,7°.

5⁴⁵ 4 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt.

5⁵⁰ Keinerlei Veränderungen.

5⁵² Putzt sich. — Lebhaft und munter.

6¹⁰ und 6¹⁵ Normal.

6³⁰ 37,7°. — Haare glatt.

20. XII. Gesund. — Bleibt am Leben.

6. (90.) Meerschweinchenversuch (Kontrollversuch) (19. XII. 10).

Flüssigkeit: wie oben.

300 g. Temperatur vor der Injektion 38,2°.

6⁰ 4 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt.

6⁵ Keinerlei Erscheinungen.

6¹⁰ Andauernd normal.

6¹⁵ Lebhaft und munter.

6³⁰ 37,7° Haare glatt.

20. XII. Gesund. Bleibt am Leben.

Versuchsanordnung:

Typhusbacillen	Antityphusser. A	Frisch. Meerschweinchenser.	Thermost.
12 ccm	3 ccm	6 ccm	23 Std.

7. (91.) Meerschweinchenversuch (21. XII. 10).

Flüssigkeit: hämolytisch rot, nicht getrübt, aber nach Fäulnis riechend.

290 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

6⁷ 4 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt.

Sofort nach der Injektion intensive, typische Krämpfe. Das Tier wird nochmals heftig nach rückwärts geschleudert.

Das Tier liegt am Rücken, dabei treten blitzartige Streckkrämpfe der Extremitäten auf, die immer heftiger werden und sich sehr oft wiederholen.

6¹² Krämpfe lassen nach. Unregelmäßige, tiefe, ausgesprochen dyspnoische Atmung. Schnappt mit geöffnetem Maul nach Luft.

6¹⁸ †.

Typhusbacillen	Antityphusser. A	Inakt. Meerschweinchenser.	Therm.
12 ccm	3 ccm	6 ccm	23 Std.

8. (92.) Meerschweinchenversuch (21. XII. 10).

Flüssigkeit: wie im Hauptversuch.

6³⁰ 4 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

6³⁵ Sitzt ruhig da, beugt sich auf Anstoß kaum vorwärts.

6³⁵ Erholt sich völlig. Munter; läuft umher. — Keinerlei Erscheinungen.

6³⁵ 37,1° — Andauernd normal.

22. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung:

	Typhusantigen	Inaktives Antityphusserum 48 ¹⁾	Frisches Meerschweinchenserum
	2 ccm	2 ccm	4,5 ccm
Kontrolle:	Typhusantigen	Inaktives Antityphusserum	Inaktives Meerschweinchenserum
	2 ccm	2 ccm	4,5 ccm

1) Kaninchen 48:

17. XI. Typhusbacillenemulsion (inakt. $\frac{1}{2}$ Std. bei 56°) von einer Schrägagarkultur in 10 ccm NaCl-Lösung, 5 ccm davon intraperitoneal injiziert.

22. XI., 27. XI., 2. XII. Ebenso.

9. XII. Prüfung auf Agglutination. $\frac{1}{50}$ und $\frac{1}{100}$ positiv; $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{1000}$ schwach positiv.

Nach 4-stündigem Aufenthalt der Röhrchen im Thermostat sehr geringes Präzipitat, das auch nach Stehenlassen über Nacht bei Zimmertemperatur nicht reichlicher wurde. — Kontaktdauer mit frischem resp. inaktivem Meerschweinchenserum 21 Std.

9. (93.) Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (9. I. 11).

Flüssigkeit: Durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

6³ 3,5 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

6⁴ Zusammengekauert mit gestäubtem Fell. 2mal blitzartige minimale Zuckungen am Vorderkörper. Ruckbewegungen. Stoßweise Atmung.

6⁷ Erholt sich sichtlich.

6¹⁰ Atmungstypus wird normal.

6³⁰ Haare glatt.

6³³ Temperatur 39°.

Keine Erscheinungen. Bleibt am Leben.

10. (94.) Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (9. I. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig; Fäulnisgeruch angedeutet.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

6¹³ 3,5 ccm intravenös. 6 Min. aufgespannt.

6¹⁵ Munter, lebhaft.

6¹⁶ bis 7° Keine Erscheinungen.

7° Temperatur 37,2°.

10. I. † in der Nacht.

Obduktionsbefund vollständig negativ.

Bei den Typhusversuchen hatten wir mehrere, ganz eindeutige positive Ergebnisse. So vor allem in den Versuchen 4 und 7. Auch Versuch 1 möchten wir im Hinblick auf das p. 611 Gesagte als positiv bezeichnen. Bei Versuch 3 fehlt leider die Kontrolle durch den Obduktionsbefund. Versuch 2 ist nicht absolut beweisend.

Negativ verlief eigentlich nur der Hauptversuch 9.

Die Kontrollen mit inaktiviertem Meerschweinchenserum 5, 6 und 8 sind wiederum vollständig negativ ausgefallen. Es erfolgte hier nicht einmal eine nennenswerte Temperaturabnahme.

Bei den Versuchen 3, 4 und 7 käme allerdings noch der Umstand in Frage, daß die Qualität der betreffenden Abgüsse nicht ganz einwandfrei war; bei Versuch 7 verzeichneten wir sogar „deutlich fauligen Geruch“. Indes sind gerade diese 3 Versuche mit ebenso beschaffenen Kontrollen belegt, die sämtlich absolut negativ verlaufen waren.

Pseudodysenterie A.**XV. Versuchsreihe.****Versuchsordnung.**

Pseudo- dysenterie ¹⁾	Antipseudodysent.- Serum A ²⁾	Frisches Meerschweinchen- serum	Thermost.
10 ccm	5 ccm	5,5 ccm	18 Std.

1. (95.) Meerschweinchenversuch (15. XII. 10).

Flüssigkeit: klar, geruchlos.

Temperatur vor der Injektion 37,3°.

12⁴⁵ 3 ccm intravenös. 5 Minuten aufgespannt.12⁴⁵ Sitzt zusammengekauert mit beschleunigter Atmung da. Bewegt sich auf Anstoß nicht.1¹⁵ 36,1°. Keine Erscheinungen.

16. XII. † in der Nacht.

Pseudodys.	Antipseudodys.-Serum A	Frisches Meerschw.-Serum	Therm.
12 ccm	3 ccm	5,5 ccm	18 Std.

2. (96.) Meerschweinchenversuch (16. XII. 10).

250 g. Temperatur vor der Injektion 37,9°.

4⁴⁵ 3 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

† unter heftigen Krämpfen in einigen Minuten.

Pseudodys.	Antipseudodys.-Serum A	Frisches Meerschw.-Serum	Therm.
12 ccm	12 ccm	11 ccm	23 Std.

3. (98.) Meerschweinchenversuch (16. XII. 10).

250 g. Temperatur vor der Injektion 35,6° (?).

5³⁵ 4 ccm intravenös. 8 Minuten aufgespannt.5³⁵ Keinerlei Erscheinungen. Nur beschleunigte stoßweise Atmung.5³⁵ Sitzt zusammengekauert mit gestäubtem Fell da.5⁴⁰ Macht kranken Eindruck. Keine Krämpfe.5⁴⁰ 34,1°.

17. XII. Matt und schwach.

18. XII. † in der Nacht.

1) Kaninchen A:

17. XI. Pseudodysenteriebacillen - A - Emulsion (1 Platinöse einer Agarkultur) in 1 ccm NaCl-Lösung inakt. — Davon 1 ccm mit NaCl-Lösung 50-fach verdünnt und davon 10 ccm intraperitoneal injiziert.

22. XI., 27. XI., 2. XII. Ebenso.

9. XII. Prüfung auf Agglutination: $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$ stark positiv, $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{1000}$ schwach positiv, $\frac{1}{5000}$ negativ.

2) Herstellung des Präzipitinogens: Emulsion von vier 20-stündigen Schrägagarkulturen in 80 ccm NaCl-Lösung; 3-stündiges Erwärmen auf 56°.

Pseudodys.	Antipseudodys.-Serum A	Inakt. Meersch.-Serum	Therm.
12 ccm	12 ccm	11 ccm	24 Std. 15 ^a Frigo

4. (99.) Meerschweinchenversuch (17. XII. 10).

250 g. Temperatur vor der Injektion 38,2°.

12^s 4 ccm intravenös injiziert. 7 Minuten aufgespannt.

12¹⁰ Ganz normal, munter.

12²² Keinerlei Erscheinungen.

12²¹ 37,4.

12⁴⁰ Etwas gestäubtes Haar. Lebhaft.

18. XII. Sehr schwach, aber keinerlei Lähmungserscheinungen.
Bleibt am Leben.

Kontrolle. Pseudodysenterie inakt. Komplement.

5. (100.) Meerschweinchenversuch (17. XII. 10).

250 g. Temperatur vor der Injektion 36,4°.

12¹⁷ 4 ccm intravenös. 5 Minuten aufgespannt.

12¹⁸ Keinerlei Erscheinungen. Lebhaft und munter.

12²⁰, 12²⁶ St. id.

12⁴⁸ 36,8°.

1° Sitzt zusammengekauert mit etwas gestäubtem Fell da.

18. XII. † in der Nacht.

48-stündige Pseudodysenteriebacillenkultur in Bouillon. 3-stündiges Erhitzen der Kultur auf 56°.

Pseudodys.-Bac.- Kultur	Antipseudodys.- Serum A	Frisches Meerschweinchen- Serum	Thermost.
12 ccm	3 ccm	6 ccm	23 Std.

6. (101.) Meerschweinchenversuch (21. XII. 10).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar; deutlicher Fäulnisgeruch.

280 g. Temperatur vor der Injektion 37,2°.

5² 4 ccm intravenös. 7 Minuten aufgespannt.

5⁶ Typische Krampfanfälle. Blitzartige Streckkrämpfe der vorderen Extremitäten. Tier wird hin und hergeschleudert.

5⁸ 9 derartige Krämpfe bisher.

5⁸ Krämpfe lassen nach. Sitzt mit gestäubten Haaren zusammengekauert da.

5¹⁶ Sehr beschleunigte Atmung.

5²⁴ Andauernd schwer krank.

5³² 35,6°.

Abends †.

Pseudodys.-Bac.- Kultur	Antipseudodys.- Serum 29 ¹⁾	Frisches Meerschweinchen- Serum	Thermost.
18 ccm	6 ccm	5,5 ccm	23 Std.

7. (102.) Meerschweinchenversuch (21. XII. 10).

Flüssigkeit: hämolytisch rot, nicht getrübt, aber deutlich nach Fäulnis riechend.

290 g. Temperatur vor der Injektion 37,3°.

4⁵³ 3 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt.

4⁵⁴ Nicht verändert. Läuft gut umher.

5¹³ Sitzt zusammengekauert mit gestäubtem Haar in einer Ecke.

5³⁰ 35°.

5³¹ Schwäche und Mattigkeit nehmen zu. Macht einen sehr schwer geschädigten Eindruck, zeigt aber keinerlei Krampferscheinungen.

5⁴⁰ Auf Anstoß bleibt es ruhig liegen.

† am gleichen Abend.

Pseudodys.-Kultur (wie oben)	Antipseudodys.- Serum 29	Inakt. Meerschweinchen- Serum	Therm.
12 ccm	3 ccm	6 ccm	23 Std.

8. (103.) Meerschweinchenversuch (21. XII. 10).

Flüssigkeit: dunkelbraun, durchsichtig, übelriechend.

290 g. Temperatur vor der Injektion 38,1°.

6²⁷ 4 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

6³⁰ Atmung beschleunigt, sonst keinerlei Erscheinungen.

6⁴⁰ Munter und lebhaft.

7⁰ 35,5°. Schwach, sitzt zusammengekauert in einer Ecke.

22. XII. † in der Nacht.

Versuchsanordnung.

	Pseudodysenterie- aufschwemmung	Inakt. Immunserum 29	Inakt. Meerschweinchenserum
C	2 ccm	2 ccm	4 ccm
D (Kontrolle)	Pseudodysenterie- aufschwemmung	Inakt. Immunserum 29	Inakt. Meerschweinchenserum
	2 ccm	2 ccm	4 ccm

1) Kaninchen 29:

17. XI. Pseudodysenteriebacillen - A - Emulsion (1 Platinöse einer Agarkultur) in 1 ccm NaCl-Lösung inakt. Davon 1 ccm mit NaCl-Lösung 50-fach verdünnt und davon 10 ccm intraperitoneal injiziert.

22. XI., 27. XI., 2. XII. Ebenso.

9. XII. Prüfung auf Agglutination: $\frac{1}{80}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{800}$ stark positiv, $\frac{1}{1000}$ schwach positiv, $\frac{1}{8000}$ negativ.

Antigenherstellung: 48-stündige Bouillonkultur 3 Stunden lang bei 56° C abgetötet. Nach 3-stündigem Aufenthalt im Thermostaten: starke Agglutination. Scharf abzentrifugiert. Zweimal gewaschen.

9. (104.) Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (5. I. 11).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,7°.

12³⁸ 3,5 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt; ca. 3 ccm Venenblut verloren.

12⁴⁰ und 12⁴⁵ Läuft lebhaft umher.

12⁴⁸ Keine Erscheinungen.

1⁶ Gestäubtes Fell. Ruhig und matt.

1¹⁰ Frißt Heu.

1¹⁵ Temperatur 36°.

Bleibt am Leben.

10. (105.) Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (5. I. 11).

Flüssigkeit, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen: 200 g. Temperatur vor der Injektion 35,7°.

12³⁸ 2,5 ccm intravenös. 5 Minuten aufgespannt. Schleppt sich langsam vorwärts. Sehr ermattet.

1⁰ Sitzt zusammengekauert mit gestäubtem Fell da. Schüttelt sich öfters.

1⁵ Ruckbewegungen. Oefters kleine blitzartige Zuckungen am Hinterleibe, wobei das Tier schubweise nach rückwärts befördert wird. Schwer krank.

1¹⁰ Frißt Heu.

1²⁰ 34,7°.

6. I. †.

Obduktion: Leber sehr blutreich. Milz vergrößert. Dünndarm und Nebennieren stark injiziert. Lungenbefund negativ. Herzbefund negativ.

Die Niederschläge wurden zweimal sorgfältig gewaschen und dann abermals mit je 4,5 ccm frischen Komplements versetzt. Extraktionsdauer im Thermostaten 23 Stunden.

11. (106.) Meerschweinchenversuch mit C. (II. Extraktion) (6. I. 11).

Flüssigkeit: dunkelbraun, durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, Gewicht 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,7°.

3⁴⁸ 3,5 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.

3⁴⁵ Ruckbewegungen. Schüttelt sich sehr stark. Die Hinterbeine werden bei den langsamen schleppenden Bewegungen des Tieres nachgezogen.

3⁵⁰ Frösteln. Vereinzelte Zuckungen.

4⁰ Haare glatt. Schütteln dauert an. Atmung nicht beschleunigt.

4²⁴ Temperatur 36,9°.

Bleibt am Leben.

12. (107.) Meerschweinchenversuch mit D. (II. Extraktion) (6. I. 11).

Flüssigkeit: dunkelrot, leicht getrübt; Fäulnisgeruch angedeutet.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 38°.

3⁴⁰ 3,5 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. — Läuft rasch umher.

3⁵⁴ Sitzt ruhig und unbeweglich da. Dann 5—6mal deutliche blitzartige Krämpfe mit schwachen Sprüngen. Beschleunigte Atmung.

4¹ Zusammengekauert mit gestäubtem Fell. Atmung s. beschleun.

4⁵ Erholt sich. Keine Krämpfe mehr.

4⁸ Beschleunigte Atmung dauert an.

4⁴⁰ Temperatur 34,5°. Läuft auf Anstoß normal.

Bleibt am Leben.

In der Versuchsreihe mit Pseudodysenterieantigen verliefen die Hauptversuche 1, 3, 4, 5, 9 und 11 negativ.

Versuch 2 ist leider nicht ohne weiteres verwertbar, da der Obduktionsbefund fehlt.

Das Ergebnis des Versuches 6, vielleicht auch jenes von 7, sprechen wir hingegen als positiv an. Allerdings wollen wir dabei nicht unerwähnt lassen, daß die Serumabgüsse in beiden Fällen einen Fäulnisgeruch darboten. Ob hier außerdem noch Giftkomponenten in Frage kommen, die mit dem „Anaphylatoxin“ nichts zu tun haben, ist nicht ausgeschlossen, zumal wir auch im entsprechenden Kontrollversuch (nach bloß 4 Minuten während der Aufspannung des Tieres) eine nicht unbeträchtliche Temperaturabnahme konstatierten.

In der letzten Gruppe von Versuchen wurde zweimal extrahiert. Die I. Extrakte erwiesen sich als nicht (deutlich) giftig. Bei den II. Extrakten ergab sich hingegen das gleiche, wie früher beim Rinderserum (s. p. 614), daß nämlich gerade in jenem Versuch Krampferscheinungen auslösbar waren, wobei das Präzipitat zum erstenmal mit inaktiviertem Meerschweinchen血清 in Kontakt gestanden hatte. Im übrigen notierten wir auffälligerweise auch beim I. „Extrakt“ mit inaktiviertem Serum, also bei einem Kontrollversuch, „kleine, blitzartige Zuckungen am Hinterleib, wobei das Tier schubweise nach rückwärts geschleudert wurde“.

Wenn wir unsere tierexperimentellen Ergebnisse nochmals überblicken, so müssen wir sagen, daß wir mit dem Anaphylatoxinversuch im allgemeinen nicht sehr viel Glück hatten. In 77 Hauptversuchen erhielten wir überhaupt nur dreimal typische Resultate mit akutem, anaphylaktischem Tod

und zwar, je einmal mit Rinderserum (II. Extrakt), mit Pferdeserum (III. Extrakt) und mit Typhus. In allen übrigen Fällen starben die Versuchstiere entweder erst viele Stunden später, zumeist in der folgenden Nacht — eine Beobachtung, die nichts aussagt, da man sie auch bei Kontrolltieren öfters zu machen Gelegenheit hat — oder aber die Meerschweinchen erholten sich sehr bald und blieben am Leben.

Der von Friedberger¹⁾ ausgesprochenen Behauptung, wonach bei Verwendung genügender Mengen von Komplement so gut wie regelmäßig der akute Tod der Tiere eintreten soll, können wir demnach auf Grund unserer Versuche nicht beistimmen. Worauf diese abweichenden Ergebnisse zurückzuführen sind, vermögen wir nicht zu entscheiden, zumal als wir uns in den meisten Fällen streng an die neueren Vorschriften Friedbergers hielten und in breiten Versuchsreihen die von Friedberger und Vallardi als optimal erkannten Mischungsverhältnisse berücksichtigten. Daß Rassenverschiedenheiten und individuelle Besonderheiten der Meerschweinchen eine große Rolle spielen können, möchten wir nicht bezweifeln. Indes sei ausdrücklich erwähnt, daß der anaphylaktische Grundversuch in der Anordnung von Doerr und Russ, am gleichen Tiermaterial wiederholt ausgeführt, in 100 Proz. (!) akuten Tod unter anaphylaktischen Erscheinungen ergeben hat.

Nichtsdestoweniger bringen unsere Versuche eine prinzipielle Bestätigung der Anaphylatoxinversuche Friedbergers; denn es gelang uns schließlich doch zu wiederholten Malen, eindeutige, positive Resultate zu erzielen, und zwar mit allen verwendeten Antigenen. Am sichersten und intensivsten allerdings mit den „aktiven Serumabgüssen“ von Rinderpräzipitaten (Biedl und Kraus). Mittels der Präzipitinmethode gelang es uns, in solchen Serumabgüssen leicht Rindereiweiß nachzuweisen. Indes möchten wir diesem Befunde, trotz der feststehenden starken primären Giftigkeit des Rinderserums für Meerschweinchen, keine weitere Bedeutung beimessen, da es sich erstens nur um Spuren handeln konnte und da außerdem diese Rinderserumspuren durch die vorangegangenen Prozeduren (insbesondere durch

1) In seinen ersten Mitteilungen.

den langen Aufenthalt im Thermostaten) längst in den inaktiven Zustand übergetreten sind.

Unsere zahlreichen Kontrollversuche, wobei mit inaktivem Meerschweinchenserum extrahiert wurde, verliefen — mit einer einzigen Ausnahme (?) — vollständig negativ. Auf dieses Ergebnis, das mit den Mitteilungen Friedbergers in vollem Einklang steht, ist zweifellos das größte Gewicht zu legen. Es beweist neuerdings ganz klar, daß der Mitwirkung des Komplements bei der anaphylaktischen Reaktion eine ausschlaggebende Bedeutung beizumessen ist; speziell auch bei der Bildung des „anaphylaktischen Giftes“ in vitro, ein Verhalten, dessen experimentelle Begründung unseres Wissens zuerst von Friedemann in Angriff genommen wurde.

Daß das anaphylaktische Gift mit gewissen Spaltprodukten des Eiweißes vom Peptoncharakter gleichzusetzen ist, erscheint nach dem bisher vorliegenden Versuchsmaterial sehr wahrscheinlich. Einen Beitrag zu dieser Frage liefert unsere weiter unten mitgeteilte kleine Versuchsreihe, woraus hervorgeht, daß wir nur mit biuretten Lösungen anaphylaktische Reaktionen beim Normaltier erhielten, während die Versuche mit abiuretten Flüssigkeiten auch in vivo negativ verliefen.

Auf einen Punkt möchten wir noch in aller Kürze hinweisen. Es ist dies die auffallend starke Giftigkeit der aus Rinderserumpräzipitaten gewonnenen Extrakte und die relativ schwache Giftigkeit des Pferdeserumanaphylatoxins. Solche Befunde legen den Schluß nahe, daß die Giftigkeit des Anaphylatoxins nicht nur vom Modus seiner Bildung, sondern wesentlich auch von der primären Giftigkeit des Antigens abhängig ist. Bei einer speziellen Prüfung dieser Frage wird sich höchstwahrscheinlich die gleiche Giftigkeitsskala für die Anaphylatoxine ergeben, wie sie von Uhlenhuth, H. Pfeiffer, Thomsen für die verschiedenen Serumarten bereits ermittelt worden ist, und es ist a priori anzunehmen, daß hochvirulente Bakterienstämme ein wirksameres Anaphylatoxin liefern werden als harmlose Saprophyten. Wir bezweifeln demnach die absolute Gleichwertigkeit von Anaphylatoxinen verschiedener Herkunft.

XVI. Versuchsreihe.

Pepton Witte (+).

1. (108.) Meerschweinchenversuch (3. I. 11).

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

4²⁸ 1 ccm einer ca. 25-proz. frisch bereiteten Lösung von Witte-Pepton in physiol. NaCl-Lösung intravenös. 4 Min. aufgespannt.

Gleich nach der Injektion typische Streckkrämpfe und wiederholte Sprünge. Legt sich auf die Seite und wird am Boden hin und her geschleudert. Extreme Dyspnoë. †.

Obduktion: Lungen stark gebläht, das Herz fast ganz überdeckend, starr, von weißer Farbe. Herz in Systole kontrahiert, klein.

Pepton Chapoteaut (+).

2. (109.) Meerschweinchenversuch (5. I. 11).

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 36,2°.

4²⁴ 1 ccm einer 10-proz., frisch bereiteten, einmal aufgekochten, wässrigen Lösung intravenös. 6 Min. aufgespannt.

Gleich nach der Injektion wiederholt typische Streckkrämpfe. Das Tier liegt in schwerster Asphyxie am Bauch, mit krampfhaft ausgestreckten Beinen.

4²⁷ Erstickungsanfälle. †.

Obduktion: Lungen positiv; Herzbefund: positiv.

Trypsinverdautes Fibrin (+).

Fibrin 0,5 g.

Trypsin (Grübler) 0,05 g.

Sodalösung 0,5-proz. 10 ccm.

Fibrin in 2 Stunden vollständig verdaut.

3. (110.) Meerschweinchenversuch (5. I. 11.)

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur nicht gemessen.

6⁷ 1 ccm der getrübbten Flüssigkeit intravenös. 15 Min. aufgespannt. Gleich nach der Injektion 4mal krampfhaft Zuckungen.

6¹⁰ 3—4mal blitzartige Zuckungen und Ruckbewegungen, aber keine richtigen Krämpfe und keine sehr beschleunigte Atmung.

6²⁰ Normal.

7. I. Gesund. Bleibt am Leben.

Trypsinverdautes Rinderserumpräzipitat.

Versuchsanordnung.

Akt. frisches Rinderserum (15 Min.) inakt. Antirinderserum

I.	$\frac{1}{10}$	2 ccm	2 ccm
II.	$\frac{1}{10}$	2 „	2 „

Nach 2-stündigem Aufenthalt im Thermostaten reichliche Präzipitate:

Rinderserumpräzipitat	I + 5 ccm	0,25-proz. Sodalösung + 0,001 g Trypsin.
„	II + 5 „	0,1-proz. „ + 0,001 g „

Nach 4-stündiger Einwirkungsdauer wurde in I und II etwa $\frac{2}{3}$ des Niederschlages gelöst.

Zentrifugiert. Verwendung der Abgüsse.

4. (111.) Meerschweinchenversuch mit I (16. I. 11).

Flüssigkeit: Spur Opaleszenz.

Meerschweinchen, 180 g. Temperatur vor der Injektion 37,1°.

2⁴⁰ 2 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt.

2⁴² bis 3⁰ Keinerlei Erscheinungen.

3⁶ 35,6°.

Bleibt am Leben.

5. (112.) Meerschweinchenversuch mit II (16. I. 11).

Flüssigkeit: wie oben.

Meerschweinchen, 180 g. Temperatur vor der Injektion 37,1°.

2⁴⁷ 3,5 ccm injiziert intravenös. 4 Min. aufgespannt.

2⁵⁰ Zusammengekauert mit gestäubtem Fell. Ruckbewegung.

3⁰ Frißt gereichtes Heu.

3⁷ 34,7°.

17. I. †. Obduktion: Lungen mäßig gebläht, aber von weicher Konsistenz. Herz klein; systol. kontrahiert.

Seldenpepton (La Roche) (—).

6. (113.) Meerschweinchenversuch (3. I. 11).

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 38°.

4⁴⁰ 1 ccm einer ca. 10-proz. frisch bereiteten Lösung in physiol.

NaCl-Lösung intravenös. 5 Min. aufgespannt.

Atmung beschleunigt.

4⁴⁴ Keine Erscheinungen.

4⁵⁶ Ruckbewegung.

5⁰ Temperatur 37,5°.

Normal. Bleibt am Leben.

7. (114.) Meerschweinchenversuch (8. I. 11).

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

12²⁶ 1 ccm einer 10-proz. Lösung intravenös. 4 Min. aufgespannt.

Munter, lebhaft.

12²⁷ Nichts.

12³⁶ Normal.

12⁴² Gestäubte Haare, Ruckbewegungen.

12⁴⁶ Munter, normal.

12⁵⁰ Temperatur 37,10°

Bleibt gesund am Leben.

8. (115.) Meerschweinchenversuch (13. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur 36,9°.

12¹² 2 ccm einer 20-proz. frisch bereiteten, klaren, dunkelbraunen

Lösung intravenös. 3 Min. aufgespannt.

† während der Injektion, ohne irgendwelche Erscheinungen.

Obduktion: Vollkommen negativ.

Glykokoll.

9. (116.) Meerschweinchenversuch (5. I. 11).

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 35,7°.

4³⁷ 0,8 ccm einer konzent. Lösung intravenös. 6 Min. aufgespannt.

Keine Erscheinungen.

4³⁹ Ruckbewegungen. — Frißt Heu.

5⁰ Normal.

5⁶ Temperatur 34,5.

Bleibt gesund.

Leucin.

10. (117.) Meerschweinchenversuch (5. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 35,7°.

4⁵⁰ 1 ccm einer gesättigten, wässrigen Lösung intravenös. 7 Min. aufgespannt.

Läuft munter umher.

4⁵⁶ Krampfartige Zuckungen (3mal).

5⁰ Gestäubtes Fell. Augen halb geschlossen.

5¹⁸ Temperatur 37,5°. Keine Erscheinungen.

7. I. Gesund; bleibt am Leben.

Alttuberkulin (—).

11. (118.) Meerschweinchenversuch (5. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,3°.

4³⁰ 1 ccm unverdünntes Alttuberkulin intravenös. 5 Min. aufgespannt.

Auf dem Spannbrett große Unruhe und †.

Obduktion: Lungen und Herzbefund ganz negativ.

12. (119.) Meerschweinchenversuch (8. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

12¹⁰ 0,5 ccm unverdünnten Alttuberkulins intravenös. 4 Min. aufgespannt.

Heftiges Zittern der Füße am Spannbrett.

Oftmals blitzartige Zuckungen.

12¹³ Ruhig. Haare gestäubt. — Ruckbewegungen.

12¹⁴ Läuft anstandslos umher.

12¹⁶ Erholt.

12³⁰ Temperatur 36,7°.

Bleibt am Leben.

13. (120.) Meerschweinchenversuch (9. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

6³⁸ 3 ccm intravenös. 7 Min. aufgespannt.

Gleich nach der Injektion äußerst geschwächt und matt. Fast moribund. Erholt sich aber in wenigen Minuten.

6³⁹ Stoßweise, beschleunigte Atmung, Ruckbewegungen. — Keine Krämpfe.

6⁴⁰ 33,5°

6⁴⁵ Andauernde Schwäche.

10. I. †. Obduktion: negativ.

14. (121.) Meerschweinchenversuch (10. I. 11).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 38,1°.

5¹⁴ 1,5 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt.

5³⁰ bis 5⁴⁰ Normal.

5⁸⁴ 37,1°.

Bleibt am Leben.

Trypsinverdaute Tuberkelbacillen.

Versuchsordnung.

Zerriebene Tuberkelbacillen 0,01 g

Trypsin (Grübler) 0,04 g

0,5-proz. Sodalösung 4 ccm

Das Gemisch bleibt 4 Stunden im Thermostaten. Zentrifugiert. Abguß leicht getrübt.

15. (122.) Meerschweinchenversuch (14. I. 11).

Meerschweinchen, 180 g. Temperatur vor der Injektion 36,9°.

3³⁶ 3 ccm intravenös. 6 Min. aufgespannt.

Matt. Beschleunigte Atmung. Sonst keine Erscheinungen.

3³⁹ Erholt sich etwas. Ab und zu blitzartige Zuckungen und Ruckbewegungen.

3⁴² Atembeschleunigung dauert an.

3⁴⁵ 32,5°.

3⁵⁴ Schwer krank.

4³⁵ 35,6°.

17. I. †. Obduktion negativ.

V. Hautimpfungen mit anaphylaktischen Giften.

Die ersten Versuche, mit kutaner Verimpfung von Anaphylatoxin beim Menschen Lokalreaktionen zu erhalten, wurden von uns (in Gemeinschaft mit Fräulein Dr. Wahl) im Juni 1910 ausgeführt; und zwar bedienten wir uns der v. Pirquetschen Methode und des aus **Tuberkulosepräzipitaten** mittels Meerschweinchenkomplement extrahierten

anaphylaktischen Giftes. Die Versuche verliefen durchwegs negativ. Da wir aber damals mit den gleichen Substanzen auch im Meerschweinchenversuch (bei intravenöser Injektion) keinerlei Krankheitserscheinungen auftreten sahen, so waren diese ersten Versuche für unsere Frage nicht ohne weiteres verwertbar. Das gleiche gilt für spätere (November 1910) Kutanimpfungen, die wir mit neuen Anaphylatoxinpräparaten in größeren Reihen an tuberkulinnegativen Kindern ausführten. Die kutane Verimpfung von aktivem Meer-schweinchenserum, das mit Tuberkulosepräzipitaten (bei 38° C durch 24 Stunden und länger) in Kontakt gestanden war, erzeugte an Ort und Stelle nicht die Spur einer entzündlichen Reizung.

In einer weiteren Versuchsreihe verimpften wir das Tuberkuloseanaphylatoxin kutan tuberkulinpositiven Kindern, um zu sehen, ob bei diesen eine eventuelle Entzündungsreaktion an den Anaphylatoxinstellen früher auftritt, als an den Orten der Kontrollimpfung mit reinem, unverdünntem Tuberkulin. Es blieben aber auch in dieser Reihe von Fällen die kutanen Impfungen mit Tuberkuloseanaphylatoxin vollständig reaktionslos.

Später bedienten wir uns zur Hautimpfung einer weit empfindlicheren ¹⁾ Methode, nämlich der intrakutanen Einspritzung. Dabei erhielten wir mit 0,1 ccm Tuberkuloseanaphylatoxin bei tuberkulinpositiven Kindern durchwegs deutliche Lokalreaktionen, die an Ausdehnung und Intensität hinter den Kontrollstellen mit unverändertem, verdünntem Alttuberkulin, kaum zurückstanden. Die intrakutanen Kochsalzkontrollen zeigten zwar auch fast regelmäßig entzündliche Reizungen, die aber nach 48 Stunden bereits vollständig verblaßt waren, während die Impfreaktionen auf Tuberkuloseanaphylatoxin und auf Tuberkulin durch mehrere Tage unverändert bestehen blieben. Allein auch diese Versuche waren nicht beweisend,

1) Die Tatsache der weit stärkeren Empfindlichkeit der intrakutanen gegenüber der kutanen Impfung geht unter anderem auch daraus hervor, daß wir in besonderen Versuchsreihen bei kutaner Verimpfung von (sterilisierten) 5-proz. Wittepeptonlösungen niemals, bei intrakutaner Injektion von 0,1 ccm hingegen ausnahmslos (und zwar sehr deutlich) positive Lokalreaktionen erhielten.

da wir im Meerschweinchenserum, das zur Extraktion der Tuberkulosepräzipitate verwendet wurde — trotz sorgfältigsten zweimaligen Waschens der Präzipitate vor dem Komplementzusatz — mittels Präzipitinmethode und Komplementablenkung sehr leicht Tuberkulinspuren nachweisen konnten. Daß diese allein dazu genühten, die spezifisch empfindliche Haut zur Entzündungsreaktion zu bringen, geht unmittelbar aus folgenden Kontrollversuchen hervor: 1) gelang es, bei solchen Kindern die gleiche Reaktion auch mit hochverdünntem Tuberkulin¹⁾ ($\frac{1}{10\,000}$ bei intrakutaner Einfuhr) zu erzielen und 2) zeigten sich die gleichen Hautreaktionen auch bei Verwendung von Meerschweinchenseris, die im inaktiven Zustande, also völlig komplementfrei, mit den Tuberkulosepräzipitaten in Kontakt gestanden hatten.

Es sei aber nochmals ausdrücklich hervorgehoben, daß alle diese Versuche mit Extrakten angestellt wurden, die auch im Meerschweinchenversuch versagten.

Bevor wir in den Besitz eines Tuberkuloseanaphylatoxins gelangten, das sich auch im Tierversuch als eindeutig wirksam erwies (s. weiter unten), stellten wir eine weitere Versuchsreihe mit abgetöteten, pulverisierten Tuberkelbacillen an, die vorerst der Trypsinverdauung unterworfen wurden. Von diesen Lösungen verimpften wir sowohl kutan als intrakutan an tuberkulinnegative Individuen.

Versuchsanordnung.

Zerriebene Tuberkelbacillen (Höchst)	0,01 g
Trypsin	0,02 g
Sodalösung 0.5-proz.	4 ccm.

Das Gemisch wurde 3 Stunden in den Thermostaten gestellt, dann durch mehrere Stunden im Frigo aufbewahrt. Starkes Zentrifugieren einstündlich. Flüssigkeit minimal getrübt, fast ganz klar.

Kontrolle mit Trypsin und Sodalösung allein bei gleicher Vorbehandlung.

Intrakutane Injektion von je 0,1 ccm.

Das Resultat war kein einheitliches. Bei einer Anzahl von Kindern ergab sich kein merkbarer Unterschied zwischen Hauptversuch und Kontrolle, bei anderen hingegen (und zwar

1) Oder mit dem „reinen“ Kochsalzlösungsabguß nach zwei- oder dreimaliger Waschung der Präzipitate.

bei der Mehrzahl) zeigte die Impfstelle mit vorbehandelten Tuberkelbacillen nach 24 und nach 48 Stunden allerdings eine deutlich stärkere Lokalreaktion als die Kontrollimpfung. Da wir aber nicht in der Lage sind, die angestellten Kontrollen als vollständig konform anzusehen, so lassen sich auch aus dieser Versuchsreihe keine beweisenden Schlüsse ableiten.

Mit dem positiven Meerschweinchenversuch vom 6. II. (Versuchsreihe IV; Tierversuch 10, p. 593) erfüllte sich erst die eigentliche Vorbedingung für ein aussichtsreicheres Weiterarbeiten auf diesem Gebiete; und zwar stellten wir mit dem Tuberkuloseanaphylatoxin vom 6. II., das sich im Tierversuch als wirksam erwiesen hatte, 4 Versuche bei tuberkulinnegativen Kindern in folgender Anordnung an:

- | | |
|--|--------------------------------|
| I. Hauptversuch: Aktiver Komplementabguß (entsprechend dem positiven Meerschweinchenversuch) | 0,1 intrakutan ¹⁾ . |
| II. Kontrolle a: Inaktiver Komplementabguß (entsprechend dem negativen Meerschweinchenkontrollversuch) | 0,1 intrakutan ¹⁾ . |
| III. Kontrolle b: Frisches Meerschweinchenserum | 0,1 intrakutan ¹⁾ . |
| IV. Kontrolle c: NaCl-Lösung | 0,1 intrakutan ¹⁾ . |

Die fehlende Tuberkulinempfindlichkeit wurde an sämtlichen Kindern nicht nur mittels der Kutanimpfung, sondern auch auf dem Wege der Stichreaktion (nach der Methode von Hamburger) festgestellt. Ihr negativer Ausfall war natürlich eine *conditio sine qua non* für alle folgenden Versuche, da, wie oben gezeigt werden konnte, die zu den Injektionen verwendeten Sera (I und II) selbst nicht völlig antigenfrei waren.

- 1) M. Sp., 12 J. Cerebrale Kinderlähmung (v. Pirquet und Stichreaktion negativ).
7. II. 5 Minuten nach der Injektion: Ueberall Quaddeln von Pfenniggröße; bei I, II, III von einer fast markstückgroßen Rötung umgeben. Bei IV ganz minimale Rötung.
- 4 $\frac{1}{2}$ Stunden: I und IV vollständig abgeblaßt; II und III minimale Infiltration mit kleinem roten Hof.
8. II. II, III und IV ganz reaktionslos. Nur bei I deutlich rote, ca. 5 mm im Durchmesser haltende Papel, die am 9. II. kaum mehr wahrnehmbar war.
9. II. Wiederholung der Tuberkulinstichreaktion mit abermals negativem Resultat.

1) An der Beugeseite des Unterarmes.

- 2) M. St., 7 $\frac{3}{4}$ J. Hereditäre Spätsyphilis (v. Pirquet und Stichreaktion negativ).
7. II. 15 Minuten nach der Injektion: Quaddeln, von einem breiten roten Hof umgeben bei I, II, IV, bei IV etwas kleiner.
30 Minuten: Zwischen I und II kein Unterschied.
4 Stunden: Alles abgeblaßt.
8. II. III und IV vollständig reaktionslos. Bei I und II kleine entzündliche Infiltrationen, wovon jene bei I bedeutend stärker ausgeprägt ist als jene bei II.
9. II. Nichts mehr zu sehen.

Bei den folgenden Fällen 3 und 4 fehlt leider die wichtige Kontrolle II, die mangels Materials nicht ausgeführt werden konnte.

- 3) H. S., 3 $\frac{1}{2}$ J. Asthma (v. Pirquet und Stichreaktion negativ).
7. II. 15 Minuten nach der Injektion: Kein Unterschied.
4 Stunden: An allen Insertionsstellen kleine Rötung, ohne Schwellung.
8. II. und 9. II. Bei I schwache Rötung und minimale Schwellung; die übrigen Stellen vollständig abgeblaßt.
- 4) F. P., 4 $\frac{1}{2}$ J. Lebertumor (v. Pirquet und Stichreaktion negativ).
7. II. Verlauf der Reaktion ganz ebenso wie bei 3.

Um in den Besitz eines neuen Tuberkuloseanaphylatoxins zu gelangen, stellten wir weitere Meerschweinchenversuche an, wobei wir auch das von Friedberger empfohlene Verfahren der wiederholten Extraktion der Präzipitate in Anwendung brachten.

Versuchsanordnung.

Q.	Alt tuberkulin	„Tuberkuloseserum“ Höchst	Frisches Meer- schweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	6 ccm
R (Kontrolle).	Alt tuberkulin	„Tuberkuloseserum“ Höchst	Inakt. Meer- schweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm	6 ccm

3 Stunden Thermostat. Reichliche Präzipitate. Kontakt mit Meer-
schweinchenserum bei 38° durch 20 Stunden.

123. Meerschweinchenversuch (mit Q) (12. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,7°.

5³⁷ 3,5 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt. Stoßweise, beschleunigte Atmung. Ruckbewegungen.

5⁴¹ Bisher und später keine Krämpfe.

5⁴⁶ Lebhaft und munter.

6⁵ 36,3°.

Bleibt am Leben.

124. Meerschweinchenversuch (mit R, Kontrolle) (12. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 37°.

5⁴⁵ 3,5 ccm intravenös. 6 Minuten aufgespannt. Zeigt bis 6¹⁰ keinerlei Erscheinungen; ganz normal.6¹⁰ 37°.

125. Meerschweinchenversuch (mit Q, II. Extraktion mit 4 ccm frischen Meerschweinchenserums 21 Stunden bei 38°) (15. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 37,8°.

2¹⁴ 3 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt.Zeigt bis 2⁴⁵ keinerlei Erscheinungen; normal.2⁴⁵ 37,5°.

126. Meerschweinchenversuch (mit R, II. Extraktion mit 4 ccm frischen Meerschweinchenserums. 21 Stunden bei 38°) (15. II.).

Flüssigkeit: wie oben.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37°.

2³¹ 2,5 ccm intravenös. 12 Minuten (!) aufgespannt. Sofort schwer krank. Kolossale Atembeschleunigung.2³⁴ Blitzartige Zuckungen. Schüttelt sich am ganzen Körper.2³⁶ Bisher 8—9 momentan blitzartige Zuckungen. Gesträubtes Haar. Bisher keine typischen Krämpfe.2⁴⁰ 33,6°.2⁵¹ Hat sich einigermaßen erholt.2⁵⁵ 35,1°.

Bleibt am Leben.

Mit diesem Tuberkuloseanaphylatoxin (R, II. Extraktion), das sich im Tierversuch als deutlich krankmachend erwies, ohne allerdings die für die Anaphylaxie typischen Krampferscheinungen hervorzurufen, stellten wir unter Berücksichtigung aller Kontrollen Intrakutanimpfungen bei weiteren 3 tuberkulinnegativen Kindern an, die aber keinen deutlichen Unterschied in der Reaktion bei I und II erkennen ließen.

Versuchsanordnung.

S.	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum	Höchst	Frishes Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm		4 ccm
T.	Alttuberkulin	Tuberkuloseserum	Höchst	Inakt. Meerschweinchenserum
	$\frac{1}{10}$ 2 ccm	$\frac{1}{2}$ 2 ccm		4 ccm
3 Stunden zur Präzipitatbildung. 22 Stunden Thermostat nach dem Meerschweinchenserumzusatz.				

127. Meerschweinchenversuch (mit S) 21. II.

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

5²¹ 3 ccm intravenös. 4 Minuten aufgespannt. Unruhe, beschleunigte Atmung.

5²⁴ Ruckbewegungen. Auf die Seite gelegt, richtet es sich sofort wieder auf. Bis 5⁴⁵ keinerlei Erscheinungen.

5⁴⁵ 36,2°.

128. Meerschweinchenversuch (mit T) (21. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

5²² 3 ccm intravenös. 3 Minuten aufgespannt. Bis 6° keinerlei Erscheinungen.

6° 37,5°.

129. Meerschweinchenversuch (mit S, II. Extraktion; 20 Stunden mit frischem Serum digeriert) (22. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 37,9°.

5¹⁶ 3 ccm intravenös. 3 Minuten aufgespannt. Stoßweise, beschleunigte Atmung.

5²⁶ Normal, munter.

5⁴⁴ 38°.

130. Meerschweinchenversuch (mit T, II. Extraktion, behandelt wie oben) (22. II.).

Flüssigkeit: wie oben.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur vor der Injektion 37,6°.

5⁸ 3 ccm intravenös. 3 Minuten aufgespannt. Sofort nach der Injektion ist das Tier unter typischen Krämpfen und extremer Dyspnoe (mit schnappenden Atemzügen) zugrunde gegangen.

Obduktionsbefund: Lungen weiß, starr, deutlich gebläht. Herz schlägt noch über 15 Minuten fort.

Mit diesem akut wirksamen Serum T (II. Extraktion) wurden weitere Intrakutanimpfungen in folgender Anordnung ausgeführt.

- I. Aktives Meerschweinchenserum T. II. Extrakt (entsprechend dem positiven Meerschweinchenserum) 0,1 ccm intrakutan.

Kontrollen:

- II. Aktives Meerschweinchenserum S (entsprechend dem negativen Meerschweinchenversuch) 0,1 ccm intrakutan.
III. Meerschweinchenserum 0,1 ccm intrakutan.

- 1) F. R., 3 J. Diphtherie (Pirquet und Stichreaktion negativ).
 23. II. 20 Min. nach der Injektion: I, II ohne Unterschied, III fast verblaßt.
 - 2 $\frac{1}{2}$ Std.: I, II gleichmäßig blässer.
 - 5 $\frac{1}{2}$ Std.: Quaddeln ganz verschwunden. Die Entzündungsreaktion bei I entschieden ausgeprägter als bei II.
 24. II. Rötung nirgends. Deutliches Infiltrat nur bei II.
 25. II. Nichts mehr zu sehen.
- 2) M. O., 3 J. Diphtherie (Pirquet und Stichreaktion negativ).
 23. II. 30 Min. nach der Injekt. Quaddelbildung bei I am geringsten.
 - 2 $\frac{1}{2}$ Std.: Zwischen I und II kein Unterschied. III fast ganz abgeblaßt.
 - 5 $\frac{1}{2}$ Std.: Quaddeln nicht mehr sichtbar. Gleichmäßige Schwellung und Rötung bei I und II.
 24. II. Leichte Rötung an allen Insertionsstellen. Bei I außerdem deutlich palpable Schwellung, die bei II und III vollständig vermißt wird.
- 3) M. M. Diphtherie (Pirquet und Stichreaktion negativ).
 27. II. Befund wie bei 2 am 1. Tage.
 28. II. I und II Rötung, bei I außerdem Schwellung, die bei II fehlt.
- 4) A. Z., 3 J. Diphtherie (Pirquet- und Stichreaktion negativ).
 27. II. Zwischen I und II kein Unterschied. III abgeblaßt.
 28. II. Bei I markstückgroße, schmerzhafte Rötung und Schwellung, bei III ganz leichte, minimale Rötung, bei II außer der vollständig reaktionslosen Einstichöffnung nichts zu sehen.

Die Resultate mit den Intrakutanimpfungen von Tuberkelbacillen-Anaphylatoxin sind also wohl im ganzen und großen als positiv anzusehen. Die entzündliche Lokalreaktionen an jenen Stellen, wo der aktive Komplementabguß injiziert wurde, waren entschieden deutlicher ausgeprägt, als an jenen Orten, wo das inaktive Serum zur Kontrollimpfung verwendet wurde. Die Unterschiede waren aber durchaus nicht so scharf ausgeprägt, als man theoretisch hätte erwarten müssen, wenn ein humorales, aus der Reaktion zwischen Antigen und Antikörper durch Komplementwirkung freigewordenes Anaphylatoxin allein das die Tuberkulinreaktion wesentlich bedingende Prinzip darstellen würde. Unsere Versuche weisen, wenn auch nur indirekt, von neuem darauf hin, daß man auf zelluläre Reaktionsvorgänge zur Erklärung des Mechanismus der Tuberkulin-

reaktion ein größeres Gewicht wird legen müssen, als es zurzeit üblich zu sein scheint.

In der nächsten und letzten Versuchsreihe arbeiteten wir mit **Rinderserumanaphylatoxin**. Mit der kutanen Impfung von Rinderserumanaphylatoxin, die wir schon vor geraumer Zeit (Sommer 1910) zum ersten Male durchgeführt hatten, erzielten wir keinerlei Reaktionen; auch nicht bei einem Mädchen, das aus therapeutischen Gründen¹⁾ eine subkutane Rinderseruminjektion erhielt und sich zur Zeit der Impfversuche im Stadium spezifischer Ueberempfindlichkeit befand. Intrakutane Injektionen von 0,1, die wir an diesem Kinde ausführten, hatten hingegen durchaus starke Lokalreaktionen zur Folge. Diese Reaktionen waren aber an den Kontrollstellen mit inaktivem Komplementabguß und mit hochverdünntem Rinderserum allein ebenso deutlich ausgesprochen²⁾, so daß dieser Fall für die intrakutane Wirksamkeit des Rinderserumanaphylatoxins als solcher nichts beweisen konnte. Bemerkenswert war das sofortige Auftreten eines allgemeinen, scharlachähnlichen Exanthems im Anschlusse an die intrakutane Impfung.

Zu den weiteren Versuchen wurden die zu injizierenden Komplementabgüsse vorher tierexperimentell geprüft und nur solche Sera verwendet, die sich im Meerschweinchenversuch als akut wirksam erwiesen hatten.

Versuchsanordnung:

Inaktives Rinderserum $\frac{1}{35}$ 4) 2 ccm	15 Min. inakt. Antirinderserum „d“ 3) 2 ccm	Frisches Meerschweinchenserum 4 ccm
Inakt. Rinderserum $\frac{1}{15}$ 2 ccm	Antirinderserum 2 ccm	Inakt. Meerschwein.-S. 4 ccm

1) Steigerung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes.

2) Bei der Untersuchung der Meerschweinchensera (aktive und inaktive Komplementabgüsse) auf Antigen ergab sich ein analoges Verhalten, wie früher bei den Tuberkulinanaphylatoxinversuchen. Beiderlei Sera enthielten Spuren von Rindereiweiß, die mittels Präzipitinmethode und Komplementbindung leicht nachgewiesen werden konnten.

3) Vom 17. II. mit dem Titer $\frac{1}{10\,000}$.

4) Die relativ hohe Verdünnung des Antigens wurde deshalb vorgenommen, weil mit konzentrierterem Rinderserum keine Präzipitate erhalten werden konnten.

3 Stunden Thermostat. Kontaktdauer des Präzipitates mit Meerschweinchenserum: 20 Stunden.

131. Meerschweinchenversuch (Hauptversuch) (22. II.).

Flüssigkeit: durchsichtig, geruchlos.

Meerschweinchen, 220 g. Temperatur 37,6°.

5⁹ 3 ccm intravenös. 3 Min. aufgespannt. Tier zeigt bis

5⁴⁰ keinerlei Erscheinungen. Temperatur 37,6°.

132. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (22. II.).

Meerschweinchen, 200 g. Temperatur vor der Injektion 37,7°.

5²⁰ 3 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Zeigt keinerlei Erscheinungen von Kranksein bis

5⁴⁵. Temperatur 38,3°.

Versuchsanordnung:

Inakt. Rinderserum	15 Min.	Frisches
$\frac{1}{35}$ 2 ccm	inakt. Antirinderserum	Meerschweinchenserum
	2 ccm	4 ccm
Inakt. Rinderserum	Antirinderserum	Inakt.
$\frac{1}{35}$ 2 ccm	2 ccm	Meerschweinchenserum
		4 ccm
2 $\frac{1}{2}$ Stunden Thermostat. Extraktionsdauer der Präzipitate mit Meerschweinchenserum 20 Stunden.		

133. Meerschweinchenversuch (3. III.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 180 g. Temperatur vor der Injektion 37,5°.

5⁴⁰ 3 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Macht schwerkranken Eindruck; schleppt sich kaum vorwärts.

5⁴² Keine Krampferscheinungen. Sitzt zusammengekauert in einer Ecke.

6⁷ 34,6°. Matt und schwach. Bewegt sich auf Anstoß nicht vorwärts.

6²⁰ 35,1°.

134. Meerschweinchenversuch (Kontrolle) (3. III.).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen 180 g. Temperatur 37,1°.

5⁴⁵ 3 ccm intravenös. 3 Min. aufgespannt. Zeigt bis 6²⁰ keinerlei Krankheitserscheinungen. Ganz normal.

6²⁰ 37,3°.

135. Meerschweinchenversuch (II. Extraktion des Kontrollpräzipitates durch 21 Std.; 4,3 ccm frisches Meerschweinchenserum) (4. III.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 230 g. Temperatur vor der Injektion 37,4°.

4²¹ 3 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Bis 4⁴⁵ außer vorübergehender Mattigkeit gleich nach der Injektion normales Befinden.

4⁴⁵ 37,1°.

Versuchsordnung:

- | | | |
|-----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 5) Inakt. Rinderserum | 15 Min. inakt.
Antirinderserum | Frisches
Meerschweinchenserum |
| $\frac{1}{25}$ 2 ccm | 2 ccm | 4,4 ccm |
| 6) Inakt. Rinderserum | Inakt.
Antirinderserum | Inakt.
Meerschweinchenserum |
| $\frac{1}{25}$ 2 ccm | 2 ccm | 4,4 ccm |
- 3 Std. Thermostat. Extraktionsdauer der Präzipitate mit Meerschweinchenserum 24 Std.

136. Meerschweinchenversuch (mit 5) (6. III.).

Flüssigkeit: durchsichtig, klar, geruchlos.

Meerschweinchen, 180 g. Temperatur vor der Injektion 37,1°.

4¹⁷ 2,6 ccm intravenös. 4 Min. aufgespannt. Erschwerte, stoßweise Atmung. Würgebewegungen.

4¹⁹ Erst blitzartige, krampfartige Zuckungen; dann richtige Krämpfe mit Sprüngen.

4²⁰ Krämpfe dauern fort, nehmen aber an Intensität ab.

4²⁵ Augen geschlossen. Tier ganz matt. Krämpfe haben nachgelassen.

4²⁸ 34,9°.

4²⁹ 35,8°.

137. Meerschweinchenversuch (Kontrolle mit 6) (6. III.).

Flüssigkeit wie oben.

Meerschweinchen, 210 g. Temperatur vor der Injektion 37,1°.

4³⁴ 3 ccm intravenös. 5 Min. aufgespannt. Zeigt bis 4⁴⁴ keinerlei Erscheinungen.

4⁴⁴ 37°.

Mit dem Meerschweinchenserum 5, das sich im Tierversuch als wirksam zeigte, wurden Intrakutanimpfungen angestellt, und zwar:

- | | |
|------------|---|
| Kontrollen | I. Serum 5, 0,1 intrakutan. |
| | II. Meerschweinchenserum, 0,1 intrakutan. |
| | III. Serum d, 0,1 intrakutan. |

1) J. R., 7 J.

7. III. 5 Std. post. inj.: II bis auf minimale Rötung abgeblaßt. I und III markstückgroße Rötung und Schwellung. Kein Unterschied.

8. III. Bei I und III sehr ausgebreitete, fast handtellerbreite Entzündungsbezirke, ohne deutl. Unterschied. II reaktionslos.

9. III. II und III fast vollständig abgeblaßt. Bei I besteht eine palpable Schwellung und eine auf Veränderungen ausgetretenen HCn beruhende, kaum angedeutete gelblich-grüne Verfärbung der Haut, die bei III fehlt.

44*

- 2) J. M., 11 $\frac{1}{2}$ J.
 7. III. 5 Std. post inj. An allen 3 Injektionsstellen Rötung und Schwellung, die bei I am deutlichsten ausgesprochen ist, trotzdem gerade hier etwas weniger als 0,1 eingespritzt wurde.
 8. III. II bis auf 5 mm im Durchmesser haltende Rötung abgeblaßt. I und III stark gerötet und geschwellt. Bei I ist aber der Entzündungsbezirk entschieden größer als bei III.
 9. III. Bei I und III Entzündung eher vorgeschritten. Der Unterschied zwischen I und III zugunsten von I auch nach 48 Std. deutlich wahrnehmbar.
 10. III. Abgeblaßt.
- 3) V. V., 4 J.
 7. III. 4 Std. post inj.: II ganz reaktionslos. I und III markstückgroße Rötung.
Bei I Quaddelbildung, die bei III nicht mehr zu sehen ist.
 8. III. Kein Unterschied zwischen I und III. Leichte Rötung und Schwellung an beiden Stellen in der Ausdehnung wie am 7. X.
 9. III. Alles abgeblaßt. Bei I Spur Pigmentierung.
- 4) B. Z., 1 $\frac{1}{4}$ J.
 7. III. 4 Std. post inj.: II fast vollkommen reaktionslos. Bei I und III markstückgroße Rötung; kein Unterschied.
 8. III., 9. III. Wie bei 3.
- 5) G. B., 4 $\frac{1}{2}$ J.
 7. III. 4 Std. post inj.: II ist fast ganz reaktionslos. Bei I ist die Entzündung stärker ausgeprägt als bei III.
 8. III. Bei I ist die Entzündung deutlich ausgedehnter und intensiver als bei III.
 9. III. Entzündliche Rötung nur mehr bei I wahrnehmbar. III abgeblaßt.
- 6) J. M., 3 J.
 7. III. 4 Std. post inj.: II abgeblaßt. Bei I und III Schwellung und Rötung (markstückgroß) ohne Unterschied.
 8. und 9. III. Kein deutlicher Unterschied.
- 7) A. H., 4 J.
 7. III. 4 Std. post inj.: II reaktionslos. Bei I und III kein deutlicher Unterschied in der Ausdehnung der lokalen Entzündung.
 8. III. Rötung bei I intensiver als bei III. Schwellung weder bei I noch bei III.
 9. III. Leichte Pigmentierung bei I und bei III.

Auf die Intrakutaninjektion von Rinderserumanaphylatoxin reagiert demnach die menschliche Haut regelmäßig mit inten-

siver lokaler Entzündung, die bei intrakutaner Verimpfung von normalem Meerschweinchenserum fast vollständig ausbleibt. Die Intrakutanimpfungen mit inaktiven Meerschweinchenseris, die durch 24 Stunden mit Rinder Serumpräzipitaten in Kontakt gestanden hatten, führen gleichfalls zu sehr deutlichen örtlichen Entzündungserscheinungen, die, obgleich nicht regelmäßig, so doch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, hinter jenen Reaktionen, wobei wirksames Anaphylatoxin eingebracht wurde, an Intensität zurückstanden.

Zusammenfassung.

Läßt man aktives Serum von Menschen mit stark positiver Tuberkulinreaktion auf Alttuberkulin einwirken, so werden aus letzterem keine primär entzündungserregenden Stoffe (nachweisbar) frei. Hingegen lassen sich aus Tuberkulosepräzipitaten mittels Meerschweinchenkomplement unter Umständen akut anaphylaktisch wirksame Stoffe extrahieren. — Der Anaphylatoxinversuch führte mit allen verwendeten Antigenen zu einzelnen positiven Resultaten. Die zahlreichen Kontrollen blieben hingegen durchwegs negativ. — Kutanimpfungen mit (im Tierversuch) wirksamen Anaphylatoxinlösungen verliefen negativ, Intrakutanimpfungen zuweilen deutlich positiv.

Literatur.

- 1) Moro, Experimentelle und klinische Ueberempfindlichkeit (Anaphylaxie). Wiesbaden (Bergmann) 1910.
- 2) Wahl, Inaug.-Diss. München, 1910.
- 3) Hamburger, Wien. med. Wochenschr., 1909, No. 25.
- 4) Rolly, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 44.
- 5) Friedberger, Medizin. Klinik, 1910, No. 13.
- 6) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, Heft 5.
- 7) — Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 42.
- 8) — Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50.
- 9) Friedberger und Vallardi, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, Heft 1/2.
- 10) Auer und Lewis, Journ. of the Americ. med. Ass., Vol. 53, 1909, 6.
- 11) Biedl und Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1910, No. 11.
- 12) — — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, Heft 1/2.
- 13) Uhlenhuth, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 26, 1897.
- 14) Pfeiffer, H., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51, 1905.
- 15) Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, Heft 6.
- 16) Friedemann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, H. 5.

Nachdruck verboten.

[Klinik für Nerven- und Geisteskrankheiten am Institute für höhere Studien in Florenz (Leitung: Prof. E. Tanzi).]

**Allergische Erscheinungen durch Isoantigene verursacht
— Isoneurotoxisches Serum.**

Von Dr. Ottorino Rossi,
Interims-Direktor der Klinik für Nerven- und Geisteskrankheiten an der
Königlichen Universität in Siena.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. März 1911.)

Wir bezeichnen als „neurotoxische“ jene Sera, welche von Tieren durch Vorbehandlung mit Nervensubstanz gewonnen werden und eine toxische Wirkung auf die Nervelemente ausüben können. Professor Centanni hat hier bahnbrechend gewirkt, indem er zuerst an die Möglichkeit, diese speziellen Antikörper hervorrufen zu können, gedacht hat. Er und Delezenne haben diese Idee gleichzeitig und mit gutem Erfolge in die Praxis eingeführt. Ihnen folgten andere Autoren, über deren Mitteilungen ich in meinen diesem Gegenstand gewidmeten Arbeiten berichtet habe (1, 2, 3).

Aus den Ausführungen jener Autoren ersehen wir folgendes:

- a) daß es möglich ist, durch Immunisation mit Nervensubstanz „Neurotoxine“ zu erzeugen;
- b) daß diese speziellen Cytotoxine auch in anderen Geweben außer dem nervösen passende Rezeptoren finden können;
- c) daß es deshalb nötig wird, dieselben in direkte Berührung mit Nervelementen zu bringen, damit sie die toxische Wirkung ausüben können.

Diese letztere Voraussetzung will ich nicht so ganz ohne Rückhalt annehmen, und ich muß die Bemerkung gegenüberstellen, daß es mir gelungen ist, durch intraperitoneale Einspritzungen des neurotoxischen Serums toxische Wirkungen, durch klinische Erscheinungen und histopathologische Veränderungen charakterisiert, zu beobachten (3).

Jedenfalls ist die Möglichkeit, heteroneurotoxisches Serum zu gewinnen, nicht mehr in Zweifel zu ziehen. Es bleiben jedoch einige nebensächliche Fragen offen, z. B. jene, welche

die absolute Spezifität dieses Serums betrifft, zugunsten welcher meine Darlegung (3) spricht, daß man Neurotoxine auszulösen imstande ist, wenn als Antigene die Gehirn-Nukleoproteide benützt werden.

Die Studien über die Sera, welche eine toxische Wirkung auf das Nervensystem besitzen, erregen bei den Neurologen das größte Interesse. Von größter Wichtigkeit ist für diese jedoch eine zweite Frage, nämlich, ob es möglich ist, isoneurotoxische Sera zu bekommen, d. h. Neurotoxine zu erzeugen durch Immunisierung von Tieren durch Einverleibung von artgleicher Nervensubstanz, was für andere Cytotoxine schon bewiesen worden ist. Positive Befunde in dieser Richtung könnten in wirksamer Weise die Hypothese unterstützen, daß auch die Erzeugung eines autoneurotoxischen Serums möglich sein kann, wie es uns für die Bildung der Autohämolysine bereits bekannt ist. Diese Hypothese könnte uns erlauben, manche Veränderungen im Nervensystem als Veränderungen sekundärer Natur zu halten, d. h. Veränderungen durch Einwirkung neurotoxischer Antikörper verursacht, welche letztere der primären Veränderung mancher Nervelemente ihr Entstehen verdanken.

Ich habe mich deshalb schon in der ersten (1) meiner Arbeiten über neurotoxische Sera mit dieser Aufgabe beschäftigt, und die aus diesen ersten Versuchen gewonnenen Resultate scheinen mir die Annahme zu bestätigen, daß die Erzeugung eines isoneurotoxischen Serums bei Säugetieren erfolgen kann. Die Wichtigkeit dieser Annahme hat mich angeregt, die Beobachtungen neuerdings aufzunehmen. Ich beschränkte mich aber auf Versuche an Hunden, weil bei diesen Tieren die klinischen Erscheinungen der Vergiftung klarer sind und die Gefahr, durch Fehlerquellen beirrt zu werden, minimal ist.

Drei Hunde wurden mit zu Brei zerriebener und in physiologischer Kochsalzlösung emulsionierter Gehirnsubstanz injiziert.

Die zu immunisierenden Tiere wie auch jene, welche Gehirn liefern sollten, wurden unter kräftigen und gesunden Individuen derselben Varietät (in italienischer Sprache sog. Pomeri) fast desselben Alters ausgewählt. Die zu immunisierenden Hunde waren ca. 5 kg schwer; während der Immunisationsperiode wurden sie gut genährt und soviel als möglich im Freien gehalten.

Die Einspritzungen wurden unter Anwendung folgender Technik ausgeführt: Das Gehirn wurde unter geeigneten Vorsichtsmaßregeln der Asepsis herausgenommen, von den Hirnhäuten befreit, zerstückt und blutfrei gewaschen. In einer sterilisierten Glasschale wurden 50 g davon gewogen; dieser Teil wurde zerrieben, in ein Glaskölbchen gegossen und mit 200 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung, auf 37° C erwärmt, emulsiioniert.

Diese so gewonnene milchige Flüssigkeit wurde intraperitoneal einverleibt, und zwar mit einem Apparat, welcher besteht: aus einem in die Mündung des Glaskölbchens passenden Pfropfen, durch welchen zwei beinahe rechtwinklig gebogene Glasröhrchen geleitet sind: eines, bis an den Boden des Kölbchens reichend, ist an seinem äußersten Teile mit einem Gummiröhrchen versehen, an welches eine Nadel angebracht wird; das zweite kürzere, und zwar in der Weise, daß es nicht bis an die Oberfläche der Flüssigkeit reicht, ist mit einem Richardsonschen Apparat in Zusammenhang.

Man pumpt nun etwas Luft in das Glaskölbchen, bis die längere Rohrleitung und Nadel voll von Flüssigkeit sind, dann sticht man die Nadel in die Bauchhöhle des Versuchstieres, pumpt wieder Luft, und zwar so, daß die ganze Flüssigkeit leicht, langsam und regelmäßig eindringt. Zwischen Richardsonschem Apparat und dem kürzeren Glasröhrchen liegt ein Röhrchen mit sterilisierter Baumwolle zwecks Filtrierung der Luft.

Jeder der drei Hunde erhält zwölf der oben beschriebenen Einspritzungen, welche nach und nach, in Zeitentfernungen von 5—6 Tagen, verabreicht werden.

Nach der vierten, der siebenten, der neunten und der zehnten Einspritzung wurde den Tieren zum Studium der Eigenschaften des Serums jedesmal ca. 20 ccm Blut entnommen. Speziell darauf muß ich die Aufmerksamkeit lenken, weil, wie gut bekannt ist, die Auslösung mancher Antikörper, z. B. der hämolytischen Ambozeptoren, durch mäßige Blutentnahmen in der zweiten Hälfte der Immunisationsperiode begünstigt wird.

Ich werde die Allergieerscheinungen, auf welche ich meine Aufmerksamkeit gerichtet habe, folgeweise darlegen.

A. Anaphylaktische Erscheinungen bei immunisierten Tieren.

Anaphylaktische Erscheinungen sind fast nicht bemerkbar geworden; im allgemeinen könnte man sagen, daß die letzte Einverleibung der Gehirnssubstanz ebensogut wie die erste getragen wurde. Manchmal und ohne irgend eine Regel beobachtete ich vorübergehendes Unwohlsein bei Versuchstieren, unabhängig davon, ob deren Serum neue und gleiche Eigenschaften erreicht hatte. Das Gewicht der Hunde ist nicht bedeutend gesunken.

Ich will daran erinnern, daß im Gegensatz Meerschweinchen, welche mit Meerschweinchengehirnssubstanz intraperitoneal

eingespritzt wurden, ausgesprochene anaphylaktische Erscheinungen boten, so daß 40 Proz. dieser Versuchstiere nach der dritten oder der vierten Einspritzung starben. Diese Tatsache ist nennenswert, auch weil aus den von Armand Delille (4) kürzlich gemachten Versuchen hervorgeht, daß die Meerschweinchen sich gegen ein Heteroantigen, d. h. Hundehirnsubstanz, weniger empfindlich als die Kaninchen zeigen.

B. Eigenschaften des Blutserums der immunisierten Tiere.

I. Das Serum besitzt keine hämolytischen Eigenschaften.

Versuche von Sartirana, Moxter, v. Dungern, Römer, Cesaris-Demel und Scotti haben uns gelehrt, daß die cytotoxischen Sera des öfteren auch ein gewisses hämolytisches Vermögen besitzen. Boeri nimmt an, daß diese Ergebnisse auch für die neurotoxischen Sera gelten können.

In meiner dritten Arbeit (3) habe ich schon bewiesen, daß ein hetero-neurotoxisches Serum, mit der von mir beschriebenen Technik gewonnen, keine hämolytische Wirkung besitzt. Nichtsdestoweniger habe ich auch in diesen neuen Versuchen, ein isoneurotoxisches Serum zu erzeugen, nicht unterlassen, die eventuelle Anwesenheit von hämolytischen Ambozeptoren gegen rote Hundebloodkörperchen, d. h. von Isohämolysinen, zu studieren. Eine erste Reihe von Versuchen wurde mit frischem Immunserum, nach der 12. Einspritzung gewonnen, gemacht. In Tabelle I sind die Resultate zusammengefaßt.

Tabelle I.

Reagenzglas No.	Menge des frischen Hundeserums	Rote Hundebloodkörperchen in der 5-proz. Suspension	Hämolyse nach 2 Stunden (im Brutschrank 37° C)
1	1,0 ccm	1,0 ccm	0
2	0,6 "	1,0 "	0
3	0,5 "	1,0 "	0
4	0,4 "	1,0 "	0
5	0,2 "	1,0 "	0
6	0,1 "	1,0 "	0
7	0,5 "	1/2 "	0
8	0,1 "	1/4 "	0
9	0,2 "	1/4 "	0
10	0,1 "	1/4 "	0

Jedes Reagenzglas wird mit physiologischer Kochsalzlösung bis 5 ccm gefüllt.

Die Resultate zeigen, daß dieses Serum keine hämolytische Wirkung ausübt. Aber ich dachte, daß es nötig wäre, eine zweite Reihe von Versuchen anzustellen, in welchen das Serum inaktiviert würde und dann reaktiviert.

Auf diese Weise erreichen wir das Ziel, die Menge einer der Komponenten des hämolytischen Systems zu bestimmen. Außerdem vermeiden wir den Einwand, daß die eventuellen hämolytischen Ambozeptoren wegen Fehlens an Komplement nicht wirken könnten. In der Tat verdanken wir Sachs einige Beobachtungen, die uns beweisen, daß sich während des Immunisierungszeitraumes ein Stadium des Sinkens des Komplementgehaltes einstellen kann.

Um das Serum zu reaktivieren, habe ich frisches Meer-schweinchenserum benützt. Die Resultate dieser zweiten Versuchsreihe — siehe Tabelle II — stimmen mit jenen der ersten überein, so daß sie als Beweis gelten können, daß das Serum keine hämolytischen Eigenschaften besitzt.

Tabelle II.

Reagenz- glas No.	Menge des inak- tivierten Hunde- immunserums	Rote Hundeblood- körperchen in der 5-proz. Suspension	Komplement (frisches Meer- schweinchenserum)	Hämolyse nach 2 Stunden im Brutschrank 37° C
1	1 ccm	1 ccm	1 ccm	0
2	0,6 "	1 "	1 "	0
3	0,5 "	1 "	1 "	0
4	0,4 "	1 "	1 "	0
5	0,2 "	1 "	1 "	0
6	0,1 "	1 "	1 "	0
7	0,5 "	$\frac{1}{2}$ "	1 "	0
8	0,2 "	$\frac{1}{2}$ "	1 "	0
9	0,1 "	$\frac{1}{2}$ "	1 "	0

Jedes Reagenzglas wird mit physiologischer Kochsalzlösung bis 5 ccm gefüllt.

II. Antihämolytische Wirkung des Serums.

Das Serum normaler Hunde zeigt keine antihämolytische Wirkung, wenn es dem hämolytischen System: „inaktiviertes Serum eines Kaninchens mit roten Hammelblutkörperchen immunisiert + frisches Meer-schweinchenserum + rote Hammelblutkörperchen“ hinzugefügt wird. Im Gegensatz dazu übte das Serum von Hunden, die mit Hundehirnsubstanz injiziert worden waren, demselben System hinzugefügt, eine aus-

gesprochene antihämolytische Wirkung aus, wie die Resultate der Tabelle III beweisen.

Tabelle III.

Reagenz- glas No.	Menge des inaktivierten Hunde- immunserums	Kaninchen- immunserum hämolytisch wirkend gegen rote Hammel- blutkörperchen	Komplement (frisches Meer- schweinchen- serum)	5-proz. Suspension von roten Hammel- blutkörper- chen	Hämolyse nach 2 Std. im Brut- schrank 37° C
1	0,1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	komplett
2	0,2 "	1 " Ver- dünnung 1:400	1 " Ver- dünnung 1:10	1 "	"
3	0,3 "	1 "	1 "	1 "	inkomplett
4	0,4 "	1 " ein- dünnung 1:400	1 " ein- dünnung 1:10	1 "	fast 0

Jedes Reagenzglas wird mit physiologischer Kochsalzlösung bis 5 ccm gefüllt.

Diese Eigenschaft tritt im Serum von allen behandelten Hunden schon nach der 8. Einspritzung nervöser Substanz ein. Ich will jetzt nicht tiefer in die Aufklärung dieser Erscheinung eingehen. Prof. Centanni, welchem für diese Studien eine unanfechtbare Kompetenz zugestanden werden muß, hat mir die Meinung ausgesprochen, daß in dem Serum der immunisierten Hunde Spuren des angewandten Antigens und damit ausgebildete Antikörper gleichzeitig vorhanden sein können. Wäre das der Fall, so wäre das von mir beschriebene Phänomen mit dem gut bekannten Mechanismus der Bordet-Gengouschen Komplementbindungsreaktion zu erklären.

Jedenfalls müssen wir auf die vorher dargestellten Versuche über die möglichen hämolytischen Eigenschaften meines Immunserums zurückblicken. Auf Grund meiner letzteren Ergebnisse könnte man gegen jene Experimente einwenden, daß die eventuellen hämolytischen Ambozeptoren ihre Wirkung nicht hätten ausüben können, weil diese von der obenerwähnten hämolysehemmenden Eigenschaft übertroffen worden wäre. Ich bin aber der Meinung, daß man diesen Einwand zurückweisen kann. Vergleichen wir die Resultate der Tabelle II mit jenen der Tabelle III, so erfahren wir, daß in der Menge von 0,1—0,2 ccm mein Immunserum keine hämolysehemmende

1) Kaninchenimmunserum reichte zur vollständigen Hämolyse aus, wenn in einer Verdünnung 1:900 zwei Stunden lang im Brutschrank (37° C) auf 1 ccm einer 5-proz. Suspension von roten Hammelblutkörperchen wirkte; in diesem Versuche war nur bis 1:400 verdünnt, um sicher zu sein, daß, wenn nicht hemmende Wirkungen kamen, die Hämolyse komplett sein sollte.

Wirkung zeigt und daß in derselben Menge auch keine hämolytische Eigenschaft gegen rote Hundebloodkörperchen zutage tritt. Ich muß bemerken, daß, wie in den Tabellen zu sehen ist, die Menge und die Qualität des Komplements genau dieselben waren.

Die von mir erwiesene hämolysehemmende Eigenschaft dieses Immunserums besitzt auch vom praktischen Standpunkte aus Bedeutung. Dieselbe rät uns, den Resultaten einer Methode vorsichtig gegenüber zu stehen, welche als geeignet vorgeschlagen wurde, um die Substanzen, welche die Wassermannsche Reaktion verursachen, zu studieren.

Ausgehend von dem Standpunkte, daß diese Substanzen von dem Abbau der Nervelemente stammen, hat man unter Anwendung der oben genannten Methode Tieren Nervensubstanz einverleibt und dann studiert, ob das Serum dieser Tiere die Eigenschaft gewonnen hatte, Komplement abzulenken, wenn es mit dem Auszug einer luetischen Leber gemischt war. Wenn wir nun merken, daß das Serum der so behandelten Tiere eine hämolysehemmende Wirkung gewinnen kann, ist es leicht, die gefährliche Fehlerquelle dieser Methode zu verstehen.

Ich will noch darauf aufmerksam machen, daß das Serum normaler Hunde keine hämolytischen Ambozeptoren gegen Hammelbloodkörperchen enthält. Diese Tatsache kann einen gewissen Wert für die Frage haben, mit welcher wir uns hier beschäftigt haben. In gleicher Zeit antwortet sie auf einen Einwand, welcher gegen eine meiner Arbeiten über die Wassermannsche Reaktion erhoben wurde, nämlich die Arbeit, in welcher ich darlegte, daß normales Hundeserum die Eigenschaft besitzt, die Hämolyse in einem hämolytischen System, mit Kaninchen-Immunserum + frisches Meerschweinchenserum + rote Hammelbloodkörperchen hergestellt, zu behindern, wenn es mit luetischem Leberextrakt gemischt, mit der für die Wassermannsche Reaktion in Anwendung gebrachten Technik hinzugefügt wird, mit anderen Worten, es äußert sich wie das Serum eines Syphilitikers.

Man entgegnete mir, daß ich unterlassen hätte zu kontrollieren, ob das Hundeserum fähig wäre, an und für sich die Hämolyse zu behindern, wenn es in derselben Menge angewandt wird, in welcher es, mit luetischem Extrakt gemischt, eine solche Wirkung ausgeübt hatte, und ich hätte mich darauf beschränkt, diese Wirkung für die doppelte Menge auszuschließen. Dieser rein spekulative Einwand stützt sich auf die Annahme, daß es bei der Wassermannschen Reaktion mit Menschenserum nötig ist, einen Kontrollversuch dieser Art herzustellen. Dieser Kontrollversuch wird geraten, weil Menschenserum des öfteren hämolytische Ambozeptoren gegen

rote Hammelblutkörperchen enthält. Deshalb kann, wenn wir uns beschränken, die eventuelle anti-hämolytische Eigenschaft dieses Serums nur auf eine Menge desselben, welche doppelt so groß ist als jene, welche wir mit Lues-extrakt gemischt haben, zu erproben, geschehen, daß die hämolytischen die eventuell vorhandenen anti-hämolytischen Eigenschaften übertreffen. In dieser Weise könnten die letzteren unerkant bleiben und so werden wir über die Deutung der Wassermannschen Reaktion getäuscht.

Dieser Kontrollversuch ist deshalb unerlässlich bei der Wassermannschen Reaktion mit Menschenserum, aber in meinem Falle wäre er überflüssig gewesen, weil Hundeserum gar keine hämolytischen Ambozeptoren gegen rote Hammelblutkörperchen enthält.

III. Präzipitierende Eigenschaften.

Ich habe manche Versuche angestellt, mit dem Ziel, zu erforschen, ob das Serum von immunisierten Hunden präzipitierende Eigenschaften gegen das für Immunisierung benützte Antigen zeigen könnte. Natürlich konnte ich nicht als Antigen eine gewöhnliche Hundehirnemulsion anwenden, weil diese, wenn auch stark verdünnt, immer trüb ist und deshalb für feine Präzipitationsbeobachtungen unbrauchbar. Diese Schwierigkeit vermied ich in folgender Weise.

In der letzten (3.) meiner Arbeiten über neurotoxische Sera beschäftigte ich mich mit der Frage, neurotoxische Sera durch Gehirnnucleoproteideinspritzungen zu erzeugen, um die Wirkung dieser Sera strenger spezifisch zu machen.

Um die Nucleoproteide aus Gehirn zu gewinnen, wendet man die Woolbrigdsche Methode an, welche in folgender Ausführung besteht: Hundehirn, in Stücken von ungefähr 1 ccm Größe, blutfrei gewaschen, wird mit destilliertem Wasser während 24 Stunden extrahiert. Der Auszug wird filtriert und dann werden die Nucleoproteide mit Essigsäure zu Boden geschlagen, gewaschen und mit den gewöhnlichen Prozessen ausgetrocknet. Für die jetzigen Präzipitationsversuche wandte ich als Antigen den Auszug von Hundehirn an, in welchem, wie die Präzipitation, mittels der Essigsäure mir bewies, die Nucleoproteide in großer Menge vorhanden waren. Wenn dieser Auszug gut filtriert wird, ist er durchsichtig und nur ein wenig opalisierend; die Opalisierung wird aber in Verdünnungen unbemerkbar, so daß uns die Technik der Schichtungsprobe sehr leicht erkennbare Präzipitationserscheinungen gibt.

Schon die ersten Versuche machten bedeutende Präzipitationserscheinungen augenfällig, wenn wir starke Antigenverdünnungen mit weniger starken Verdünnungen des Serums, in welchem wir die präzipitierende Eigenschaft prüfen wollten, schichteten, oder schwache Verdünnungen des Antigens mit unverdünntem Serum.

Wenn wir eine Verdünnung von 1:20 bis 1:50 des Antigens resp. mit unverdünntem oder mit 1:5 bis 1:10 verdünntem Serum schichteten, erschienen an der Schichtgrenze, gut umschrieben, bedeutende Präzipitationsringbildungen. Diese Ringbildungen sind so bedeutend, daß die Vermutung, welche Professor Gruber äußerte und welche ich mit Heuck und Plaut (5) für andere Ringbildungen ausgesprochen habe, d. h. ob es sich nicht etwa um rein optische Phänomene an der Grenzschicht handeln könne, ob nicht etwa durch Spiegelung beim Eintreten der Lichtstrahlen aus einem dünneren in ein dichteres Medium eine Ringbildung vorgetäuscht werden könne, nicht in Frage kommen darf.

Bevor wir feststellen, daß das Serum der immunisierten Hunde präzipitierende Eigenschaft gewonnen hat, müssen wir natürlich beobachten, welche Phänomene entstehen, wenn wir Antigenverdünnung und normale Hundesera schichten.

Aus den Versuchen, welche ich in dieser Richtung gemacht habe, resultierte, daß manchmal an der Berührungsoberfläche dieser Flüssigkeiten sich eine dünne opalisierende Schicht bildete, welche aber niemals das Aussehen einer echten Ringbildung erreichte.

Die Tatsache, daß wir die deutlichsten Präzipitationsphänomene gewahrten, wenn wir die Flüssigkeiten in verschiedener Verdünnung aufeinander schichteten, rät mir, an die Möglichkeit zu denken, daß es sich in diesen Phänomenen nicht um reine Eiweißfällungen im biologischen Sinne des Wortes, sondern um Salzausscheidung handeln könne. Ich schichtete deshalb separat Serum wie das Antigen unverdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung und beobachtete oberhalb des Antigens oder des Serums eine unbestimmte Wölkchenbildung, welche sich langsam bis ungefähr in die Hälfte des Kochsalzlösungsvolumens ausbreitete. Ähnliche Erscheinungen wie unter Anwendung von Kochsalzlösung konnte ich durch Schichtung des Serums oder des Antigens mit destilliertem Wasser beobachten; aber wegen ihrer Unbestimmtheit, wegen der Art der Entstehung, wegen des Aussehens, sind diese Bildungen in keiner Weise mit den echten Präzipitationsringbildungen zu vergleichen.

Auf Grund dieser Erfahrungen bin ich geneigt anzunehmen, daß in dem Blutserum der mit Gehirnschubstanz intraperitoneal injizierten Tiere sich Substanzen gebildet haben, welche eine präzipitierende Eigenschaft gegen die Gehirnnucleoproteide enthaltende Flüssigkeit zu äußern imstande sind. Diese präzipitierenden Eigenschaften traten schon nach der 6. Einspritzung in allen behandelten Hunden zutage.

IV. Neurotoxische Eigenschaften.

Um die neurotoxischen Eigenschaften zu prüfen, folgte ich dem Wege der intracerebralen Injektionen, deren Technik ich hinreichend in meinen anderen Arbeiten geschildert habe.

Ich legte den Schädelknochen eines Hundes bloß und durchbohrte ihn mit einem äußerst feinen Bohrer. Für die Einspritzung habe ich eine spezielle Nadel anfertigen lassen; diese, eine feine Stahlnadel, welche in eine gute Luerspritze passend einmündet, wird mit einer aus genügend weicher Bleilegierung gemachten Hülle versehen, welche die Nadel spitzwärts ungefähr 8 mm frei läßt. Die Umhüllung ist kegelförmig, mit ihrer schmälsten Seite gegen die Nadelspitze gerichtet, so daß dieser Teil der Hülle, wenn wir nun die Einspritzung machen, gegen die Lochränder gutschließend gepreßt wird. Dadurch wird vermieden, daß die eingespritzte Flüssigkeit durch den zwischen Lochrändern und Nadel frei bleibenden Raum austreten könnte.

Wenn wir in dieser Weise Hunde, mit einer bestimmten Menge des Serums von immunisierten Tieren derselben Varietät gewonnen, intracerebral einspritzen, beobachtet man folgenden Symptomenkomplex:

Der Hund, welchem das Serum ohne Narkose und ohne irgendeine andere Betäubungsvorbehandlung eingespritzt wird, bleibt für ungefähr $\frac{1}{4}$ Stunde ohne abnorme Erscheinungen. Nach diesem Zeitraume treten ausgebreitetes Zittern und muskuläre Zuckungen ein, welche durch eine halbe bis eine Stunde andauern; gleichzeitig leiden die Hunde oft an galligem Erbrechen. Nachher legen sich die Tiere vollkommen stumpf und unreizbar nieder. Diese Torpidität wird oftmals von epileptischen Krampfanfällen unterbrochen, welche sich gewöhnlich, durch ziemlich große Zeitintervalle getrennt, zwei-, dreimal wiederholen. Wenn das Symptomenbild schwerer ist, erholt sich das Tier nicht mehr; die Torpidität verwandelt sich nach und nach in Schlafsucht und es stirbt 4—8 Stunden nach der Einspritzung. Ist die Vergiftung leichter, dauert

diese Torpidität ungefähr 10—12 Stunden, dann erholt sich der Hund langsam und fängt an sich zu bewegen, aber 36 bis 48 Stunden nach der Einspritzung weist er die Nahrung zurück und sieht unwohl aus; nach Ablauf des 3. Tages erscheint er wieder vollständig gesund. In diesem geschilderten Symptomenbild sind alle die Elemente desjenigen der Vergiftung mit hetero-neurotoxischen Sera vorhanden, aber alle sehr gemildert, besonders bezüglich der Konvulsionen; letalen Ausgang konnten wir nur in den Fällen, in welchen das Serum in ziemlich großer Menge eingespritzt war, beobachten.

Um diese Experimente durchzuführen, injizierte ich 12 Hunde. Die angewandte Menge des Serums schwankte zwischen 0,55—0,80 ccm pro Kilo. Der Tod trat nur bei 2 Tieren, mit der letzten Menge eingespritzt, ein.

Die Zeit betreffend, in welcher die neurotoxischen Eigenschaften hervortreten, kann ich berichten: das Serum von den immunisierten Tieren, nach der letzten intraperitonealen Injektion gewonnen, zeigte sich als das stärkste; in der Dosis von 0,80 ccm wirkte es tödlich, in jener von 0,50—0,60 ccm brachte es schwere Erscheinungen. Das Serum, nach 8 Einspritzungen gewonnen, übte eine klare toxische Wirkung aus, führte aber nicht zu letalem Ausgange, wenn auch in der Menge von 0,80 ccm pro Kilo angewandt. Das nach der 4. und 5. Einspritzung gewonnene Serum zeigte kein ausgesprochenes toxisches Vermögen.

Was die Konstanz der Ausbildung dieser speziellen toxischen Eigenschaft betrifft, so beobachtete ich, daß sie in 2 von den immunisierten Hunden gleichzeitig und in derselben Stärke erschien, während das Serum des 3. Hundes, mit derselben Methode behandelt, dieselbe nie in ausgesprochener Weise zeigte. Solche individuelle Ausnahmen sind oft auch für andere Antigene bemerkt worden.

Ist diese neurotoxische Wirkung mit speziellen Antikörpern in Zusammenhang? Zu widerlegen, daß normale Sera ähnliche Symptome bei Tieren verursachen könnten, scheint mir überflüssig zu sein. Tatsächlich stimmen alle Forscher, welche dem Argumente der neurotoxischen Sera ihre Studien gewidmet haben, mit dieser Annahme überein. Wenn die intracerebrale Einspritzung mit der geeigneten

Technik ausgeführt wird, ist das Trauma wirklich minimal und wenn wir auch eine größere als die von mir benutzte Menge von Serum einspritzen, ist die Injektionsstelle, schon wenige Stunden nach der Einspritzung, kaum als ein kleiner Einstich bemerkbar.

Wir können andererseits ausschließen, daß die toxischen Eigenschaften mit hämolytischen Eigenschaften in Verbindung stehen. Das von mir gewonnene Immunserum äußert keine hämolytische Wirkung gegen Hundebutkörperchen. Die hämolytische Wirkung wurde auch gegen Blutkörperchen jener Hunde geprüft, denen die Immunsera später eingespritzt wurden.

Ich glaube auf Grund meiner Erfahrungen zu der Schlußfolgerung gelangen zu können, daß die Eigenschaft, auf das Nervensystem toxisch zu wirken, welche mein Serum besitzt, durch die Immunisierung der Tiere mit Hundehirnsubstanz erlangt worden ist, und daß dies höchstwahrscheinlich durch den bekannten Immunisationsprozeß geschieht, d. h. daß die behandelten Tiere auf die Einverleibung des genannten Antigens mit der Bildung spezieller Antikörper-Isoneurotoxine reagierten.

* * *

Wie ich es schon mit gutem Erfolg für die hetero-neurotoxischen Sera durchgeführt habe, so versuchte ich auch für das isoneurotoxische Serum, ob es möglich sei, dieses durch Hirnnucleoproteide zu erzeugen.

2 Hunden spritzte ich jeden 6. Tag Hundehirnnucleoproteide intraperitoneal ein. Jedesmal wandte ich jene Menge von Nucleoproteiden an, welche aus 75 g Gehirn mit der Woolbrigdschen Methode gewonnen werden kann.

Die Phänomene der Kategorie A stellten sich wie in den mit Hundehirnemulsion behandelten Tieren dar; jene der Kategorie B wie folgt:

I. Das Serum hat keine hämolytische Eigenschaft gewonnen.

II. Es besitzt aber eine hämolysehemmende Wirkung, wenn es einem hämolytischen System — Kaninchenimmunserum + Komplement + rote Hammelbutkörperchen hinzugefügt wird. Diese Wirkung war aber bedeutend weniger ausgesprochen als

beim Serum der mit Hundehirnemulsion immunisierten Hunde; nur die Menge von 0,4 ccm verursachte eine leichte Hemmung.

III. Das Serum zeigte präzipitierende Eigenschaften gegenüber dem Hundehirnauszug und gewann dieselben früher — schon nach der 4. Einspritzung — und stärker als das Serum der Tiere der ersten Versuchsreihe.

IV. Die neurotoxischen Eigenschaften waren milder. Nur das nach der 12. Einspritzung gewonnene Serum verursachte in der Dosis von 0,80 ccm pro Kilo bemerkbare toxische Erscheinungen.

Zusammenfassung.

I. Wenn wir als Antigen eine Emulsion von blutfrei gewaschenem Hundehirn benützen, erzeugt man in den damit immunisierten Tieren keine isohämolytischen Ambozeptoren.

II. Dieses Antigen jedoch erzeugt in den Organismen, in welche es einverleibt wird, manche Allergiephänomene, welche sich durch neue Eigenschaften des Serums nachweisen lassen:

a) die Eigenschaft, die Hämolyse von Hammelblut durch spezifisches Immunserum vom Kaninchen zu hemmen;

b) präzipitierende Eigenschaft gegen das zur Immunisierung benützte Antigen;

c) toxische Wirkung, welche höchstwahrscheinlich speziellen Isoneurotoxinen zuzuschreiben ist.

III. Zwischen dem Entstehen der beiden ersten Eigenschaften und jenen der letzteren scheint kein konstanter Zusammenhang vorzuliegen. Die zwei ersten sind zum Unterschiede von der dritten in allen immunisierten Tieren hervorgetreten, auch wenn als Antigen Nucleoproteide angewandt worden waren, während in diesem letzteren Falle die dritte Eigenschaft kaum bemerkbar war.

Literaturverzeichnis.

- 1) Rossi, O., *Rivista di Patologia nervosa e mentale*, Vol. 12, 1907, Fasc. 2, p. 72.
- 2) —, *Ibidem*, Vol. 12, 1907, Fasc. 9, p. 417.
- 3) —, *Journal f. Psychologie u. Neurologie*, Bd. 14, 1909, Heft 5/6.
- 4) Armand-Delille, P. J., *Compt. rend. de la Soc. de Biologie*, T. 68, 1910, No. 10.
- 5) Plaut, F., Heuck, W., Rossi, O., *Münch. med. Wochenschr.*, 1908, No. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Städtischen hygienischen Institut in Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. M. Neisser). Bakteriologisch-hygienische
Abteilung: Dr. H. Braun.]

Zur Kenntnis des bakteriziden Komplementes.

Von Dr. H. Braun.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. März 1911.)

Die grundlegende Feststellung des komplexen Baues des hämolytischen Komplementes durch Morgenroth-Ferrata hatte unsere Anschauungen über die Wirkungsweise desselben einer Revision zu unterziehen veranlaßt. Durch eine Reihe von Untersuchungen sind die quantitativen Verhältnisse betreffs der beiden Komplementbestandteile in den Seris einzelner Tierspecies und die Rollen der isolierten Komplementteile bei der Hämolyse analysiert worden, und als Endergebnis ging die Tatsache hervor, daß die Komplementwirkung als die Resultante der voneinander unabhängigen Funktionen zweier Serumkörper, des von Brand so genannten Endstückes und Mittelstückes anzusehen ist. Das isolierte Vorkommen des Mittelstückes in einzelnen Seris, die Ergebnisse der Bindungsversuche, das isolierte Zerstörtwerden des Mittelstückes durch das Kobragift und die Möglichkeit des Vertauschens der Mittelstücke sind Tatsachen, welche mit der Annahme des Komplementes als einheitlichen Stoffes unvereinbar erscheinen; insbesondere sprechen die verschiedenen Rollen des Endstückes und Mittelstückes bei der Hämolyse gegen eine solche Auffassung. Es zeigt sich nämlich, daß zwischen den beiden Bestandteilen des Komplementes bei der Hämolyse ähnliche Beziehungen bestehen, wie sie seinerzeit von Morgenroth und H. Sachs zwischen Ambozeptor und Komplement nachgewiesen worden sind. Die beiden Komplementbestandteile können sich gegenseitig vertreten, wenn sie auch funktionell nicht gleichwertig sind. Während man durch erhöhte Menge des Endstückes das Mittelstück ersetzen kann, so daß geringe Mengen von dem-

45*

selben genügen, um Hämolyse herbeizuführen, sieht man bei umgekehrter Versuchsanordnung nicht ganz das gleiche. Wohl kann man durch erhöhten Mittelstückgehalt bei geringerer Endstückmenge Hämolyse herbeiführen, aber diese gelingt nur bis zu einem gewissen Grad. Wir begegnen hier ähnlichen Beziehungen, wie sie sich zwischen einem Ferment und einem Katalysator vorfinden (Pankreasferment und Enterokinase).

Diese für die Hämolyse festgestellten Tatsachen forderten dazu auf, das bakterizide Komplement in dieser Richtung hin zu untersuchen.

Liefmann und Stutzer haben sich zuerst dieser Aufgabe unterzogen und gelangten zu dem interessanten Ergebnis, daß das bakterizide Komplement in seinem Bau prinzipiell von dem hämolytischen abweicht und nur dem sogenannten Endstück entspricht. Sie führten ihre Untersuchungen mit dem Choleravibrio und homologem Kaninchenimmenserum aus. Als Komplement diente ihnen frisches Meerschweinchen-serum. Die interessante Feststellung der genannten Autoren auf Allgemeingültigkeit zu prüfen, stellten wir uns zur Aufgabe.

Da die Methodik sowohl für die Spaltung des Komplementes als auch insbesondere für bakterizide Versuche von großer Wichtigkeit ist, wollen wir zunächst die von uns angewandte Technik im Detail wiedergeben.

Nachdem wir die Ueberzeugung gewonnen hatten, daß mittelst der Dialyse- und Kohlensäuremethode steriles Arbeiten auf große Schwierigkeiten stößt, bedienten wir uns bei all unseren Versuchen zur Spaltung des Komplementes ausschließlich der Methode von H. Sachs und K. Altman n. Diese besteht darin, daß frisches Meerschweinchen-serum mit salzsäurehaltigem destillierten Wasser gefällt wird. Die Autoren geben in ihrer vorläufigen Mitteilung an, daß man auf 0,5 Serum 4,1 ccm $n/250$ — $n/300$ -HCl zusetzen soll. Vergleichende Versuche zeigten uns, daß in der Mehrzahl der Fälle die $n/300$ Salzsäure die optimale Säurekonzentration darstellt (Versuch I), daß dagegen die $n/250$ Salzsäure das Komplement meist unvollständig spaltet, indem das sogenannte Endstück noch volle Komplementwirkung behält. Die Ursache liegt darin, daß die Eiweißfraktion, in der sich das sogenannte Mittelstück befindet, bei dem geringsten Säureüberschuß in Lösung geht. Wir nahmen in unseren Versuchen die Prüfung auf die gelungene Spaltung gleichzeitig mit 5-fach und 50-fach sensibilisiertem Blute vor.

Komplementtrennung nach Sachs und Altmann.

Section 8

Resultat: Mit $\frac{1}{250}$ norm. HCl ist die Trennung unvollständig, mit $\frac{1}{500}$ norm. HCl vollständig.

Erklärung der Bezeichnungen: k = komplett
 st = stark m = mäßig w = wenig
 gelbl. = gelblich

Versuch II und III.

Vibrio Metschnikoff, 24-stündige Bouillonkultur, Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung 1:100.
 Vibrio-Metschnikoff-Meerschweinchenimmenserum vom 28. XI. Titration mit 0,1 Meerschweinchenenserum als Komplement.

1,0 $\frac{1}{10}$ Immenserum = Neisser-Wechsberg'sches Phänomen
 1,0 $\frac{1}{100}$ " = steril
 1,0 $\frac{1}{1000}$ " = 3 Keime
 1,0 $\frac{1}{10000}$ " = einige 100 Keime
 Einsaat = ∞

Komplementtrennung nach Sachs-Altman mit $\frac{1}{1000}$ -norm. HCl.
 Mittelstück in der doppelten Menge Kochsalzlösung gelöst als dem Ausgangsvolumen entsprach.

1) 1,0 $\frac{1}{100}$ Metschnikoff-Immenserum	+ 0,1 natives Meerschweinchenenserum	+ 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschwemm.	+ 1,5 NaCl
2) 1,0 " "	+ 1,0 Endstück (= 0,1 Serum)	+ 0,1 " "	+ 0,6 " "
3) 1,0 " "	+ 0,2 Mittelstück (= 0,1 Serum)	+ 0,1 " "	+ 1,4 " "
4) 1,0 " "	+ 1,0 Endstück + 0,2 Mittelstück (= 0,1 Serum)	+ 0,1 " "	+ 0,4 " "

Resultat. Versuch II:

- 1) 1 Kolonie
- 2) Einige 1000 Kolonien
- 3) Einige 1000 Kolonien
- 4) 20 Kolonien

Resultat. Versuch III:

- 1) Etwa 100 Kolonien
- 2) Fast ∞
- 3) ∞
- 4) Einige 100 Kolonien

Kontrollen:

1) 2,6 NaCl	+ 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw.	+	—
2) 2,6 " "	+ 0,1 " "	+	—
3) 2,5 " "	+ 0,1 " "	+	0,1 natives Meersch.-Serum
4) 1,6 " "	+ 0,1 " "	+	1,0 $\frac{1}{100}$ Metschn.-Immenserum
5) 1,6 " "	+ 0,1 " "	+	1,0 Endstück (= 0,1 Serum)
6) 2,4 " "	+ 0,1 " "	+	0,2 Mittelstück (= 0,1 Serum)
7) 2,6 " "	—	+	0,1 natives Meersch.-Serum
8) 1,7 " "	—	+	1,0 $\frac{1}{100}$ Metschn.-Immenserum
9) 1,7 " "	—	+	1,0 Endstück (= 0,1 Serum)
10) 2,5 " "	—	+	0,2 Mittelstück (= 0,1 Serum)

Resultat Versuch II:

- 1) Etwa 1000 Kolonien
- 2) Einige 1000 Kolonien, sehr klein
- 3) Etwa 100 000 Kolonien
- 4) Einige 1000 Kolonien
- 5) Einige 1000 Kolonien, sehr klein
- 6) Etwa 100 000 Kolonien
- 7) \emptyset
- 8) \emptyset
- 9) \emptyset
- 10) \emptyset

Resultat Versuch III:

- 1) Fast ∞
- 2) ∞
- 3) ∞
- 4) Fast ∞
- 5) ∞
- 6) ∞
- 7) \emptyset
- 8) \emptyset
- 9) \emptyset
- 10) \emptyset

Kontrollen der Trennung zu III mittels Hämolyse.

Endstück allein										Resultat
1) 2,0 Endstück	(= 0,2 Serum)	+ 0,25 $\frac{1}{100}$ Ambozeptor	+ 0,0 NaCl	+ 1,0 Blut	1) ϕ gelblich					
2) 1,0 "	(= 0,1 ")	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	+ 1,0 "	2) ϕ					
3) 2,0 "	(= 0,2 ")	+ "	+ 0,25 " "	+ 1,0 "	3) ϕ					
Endstück allein										
1) 2,0 Endstück	(= 0,2 Serum)	+ 0,25 $\frac{1}{10}$ Ambozeptor	+ 0,0 NaCl	+ 1,0 Blut	1) ϕ gelblich					
2) 1,0 "	(= 0,1 ")	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	+ 1,0 "	2) ϕ					
Mittelstück allein										
1) 0,4 Mittelstück	(= 0,2 Serum)	+ 0,25 $\frac{1}{100}$ Ambozeptor	+ 1,6 NaCl	+ 1,0 Blut	1) gelblich					
2) 0,2 "	(= 0,1 ")	+ 0,25 " "	+ 1,8 " "	+ 1,0 "	2) sehr schwach gelblich					
3) 0,1 "	(= 0,05 ")	+ 0,25 " "	+ 1,9 " "	+ 1,0 "	3) ϕ					
4) 0,4 "	(= 0,2 ")	+ "	+ 1,85 " "	+ 1,0 "	4) ϕ					
Mittelstück allein										
1) 0,4 Mittelstück	(= 0,2 Serum)	+ 0,25 $\frac{1}{10}$ Ambozeptor	+ 1,6 NaCl	+ 1,0 Blut	1) Spürchen					
2) 0,2 "	(= 0,1 ")	+ 0,25 " "	+ 1,8 " "	+ 1,0 "	2) ϕ gelblich					
3) 0,1 "	(= 0,05 ")	+ 0,25 " "	+ 1,9 " "	+ 1,0 "	3) ϕ "					
Endstück + Mittelstück, gleichzeitig zugesetzt										Resultat
1) 1,0 Endstück	+ 0,2 Mittelstück (= 0,1 Serum)	+ 0,8 NaCl	+ 0,25 $\frac{1}{100}$ Ambozeptor	+ 1,0 Blut	1) Blut					
2) 0,5 "	+ 0,1 " (= 0,05 ")	+ 1,4 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	2) " "					
3) 0,3 "	+ 0,06 " (= 0,03 ")	+ 1,1 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	3) " "					
4) 0,2 "	+ 0,04 " (= 0,02 ")	+ 1,4 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	4) Spürchen					
5) 0,1 "	+ 0,02 " (= 0,01 ")	+ 1,7 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	5) " "					
6) 1,0 "	+ 0,2 " (= 0,1 ")	+ 1,05 " "	+ "	+ 1,0 " "	6) gelbliche Zönnchen					
Komplement $\frac{1}{10}$										Resultat
1) 1,0 Komplement	+ 1,0 NaCl	+ 0,25 $\frac{1}{100}$ Ambozeptor	+ 1,0 Blut	1) k						
2) 0,5 "	+ 1,5 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	2) k Schleier						
3) 0,3 "	+ 1,7 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	3) st						
4) 0,2 "	+ 1,8 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	4) m						
5) 0,1 "	+ 1,9 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	5) Spürchen						
6) 1,0 "	+ 1,25 " "	+ "	+ 1,0 " "	6) Spur						
7) 0,5 "	+ 1,75 " "	+ "	+ 1,0 " "	7) gelblich						
8) —	+ 2,0 " "	+ 0,25 $\frac{1}{100}$ Ambozeptor	+ 1,0 " "	8) ϕ						
9) —	+ 2,25 " "	+ 0,25 " "	+ 1,0 " "	9) ϕ						

Resultat der bakteriziden Versuche: Endstück und Mittelstück sind für sich allein nicht imstande, mit Hilfe eines Ambozeptors Bakterien abzutöten, dagegen vermögen diese beide zusammen.

Resultat des hämolytischen Versuches: Mit 5 Ambozeptoreinheiten ist die Trennung vollständig. Bei der Prüfung mit 50 Einheiten zeigt das Mittelstück minimale Wirksamkeit.

Beim hämolytischen Versuch zum bakteriziden Experiment II war die Trennung vollständig.

Die Methode von Sachs und Altmann bewährte sich ausgezeichnet, nicht nur wegen ihrer Schnelligkeit, sondern insbesondere wegen der Möglichkeit sterilen Arbeitens. Man kann die nötigen Reagentien durch Hitze sterilisieren und die Salzsäure wirkt nebstdem noch desinfizierend. Bei unseren Versuchen bedienten wir uns des Vibrio Metschnikoff und als Ambozeptor benutzten wir ein Meerschweinchenimmunserum. Im übrigen hielten wir uns, wie aus unseren Versuchsprotokollen zu ersehen ist, an die von M. Neisser und Wechsberg begründete Methodik des bakteri-ziden Reagenzglasversuches mit dem unwesentlichen Unterschiede, daß wir stets den ganzen Inhalt des Röhrchens zur Platte ausgegossen haben.

Erwähnen möchten wir noch, daß wir die Einsaat absichtlich nicht klein wählten, um die des öfteren vorhandene Bakterizidie des Meerschweinchen-serums aufzuheben.

I.

Wir gehen nun zur Besprechung der Resultate unserer Versuche über.

Wie gleich hier gesagt werden soll, gelangten wir in unseren Experimenten zu anderen Ergebnissen als Liefmann und Stutzer.

Die Experimente lehrten uns, daß das bakterizide Komplement dem hämolytischen sowohl in seinem Bau als auch in seiner Wirkungsweise gleicht. Als Beispiel diene Versuch II und III (p. 668/69). Wir möchten bemerken, daß wir bei allen Versuchen gleichzeitig bakterizide und hämolytische ausführten, wie wir bei diesem Protokolle mitteilen. In den weiter unten angeführten Experimenten haben wir von einer detaillierten Wiedergabe der hämolytischen Versuche abgesehen.

Wie aus diesem Protokolle und zahlreichen analogen Versuchen zu ersehen ist, zeigt weder das Endstück noch das Mittelstück im Verein mit dem Ambozeptor eine bakterienabtötende Wirkung. Diese dokumentiert sich aber aufs deutlichste dort, wo beide Serumfraktionen anwesend sind.

In einigen unserer Versuche, wo größere Endstück-mengen zur Anwendung kamen (wir werden weiter unten einen solchen Versuch ausführlich wiedergeben), sahen wir allerdings eine deutliche keimfeindliche Wirkung, die sich selten in einer Bakterienverminderung, in den meisten Fällen in einer Wachstums-hemmung manifestierte. Wir sind geneigt, dieses Vor-

kommnis auf Grund unserer Experimente auf die Fehler der Methodik zurückzuführen.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß das bakterizide Komplement einen komplexen Bau besitzt, richteten wir unsere Aufmerksamkeit zunächst den quantitativen Verhältnissen zu. Welche Funktionen nehmen die beiden Bestandteile bei der Bakterienabtötung ein? Unsere Versuchsanordnung gestaltete sich derart, daß wir einerseits bei gleichbleibender Endstückmenge die Mittelstückquantität variierten und umgekehrt. Die Details unserer Versuchsanordnung zeigt das nächstfolgende Protokoll (siehe p. 672).

Wir ersehen aus diesem Versuche, daß bei genügenden Endstückmengen eine relativ sehr kleine Quantität der Globulinfraktion des Serums genügt, um eine Abtötung herbeizuführen. Und gleichzeitig zeigt sich, daß bei umgekehrter Versuchsanordnung durch die Erhöhung des Mittelstückgehaltes die keimfeindliche Funktion auch einer geringeren Menge des Endstückes gefördert wird. Doch ergibt sich aus diesem und anderen analogen Versuchen, daß das Endstück nur bis zu einem gewissen Grade durch das Mittelstück ersetzt werden kann, da die Bakterizidie vollständig ausbleibt, auch bei großem Ueberschuß von Mittelstück, wenn man mit dem Endstück unter eine gewisse Quantität, die relativ nicht gering ist, heruntergeht. Diese Tatsache, die wir schon bei unseren Hämolyseversuchen¹⁾ gesehen haben, spricht für eine funktionelle Unabhängigkeit und Verschiedenheit der Wirkungsweise der beiden Komplementbestandteile.

Wir hatten bei unseren Versuchen Gelegenheit, die Vollständigkeit der Trennung desselben Komplementes für Bakterizidie und Hämolyse vergleichend prüfen zu können und wir machten die Erfahrung, daß für beide Funktionen die Trennung meistens parallel geht, wenn auch diese Regel nicht ohne Ausnahme besteht.

II.

Wie die Untersuchungen von Landsteiner, Liefmann und Cohn, Guggenheimer, Marks, Fränkel und unsere eigenen zeigten¹⁾, können sich die Mittelstücke und

¹⁾ Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, Heft 1 u. 2.

Versuch IV.

Vibrio-Metschnikoff-Meerschweinchenimmunsrum.

Bouillonkultur 24 Stunden alt, Verdünnung $1/100$.

Komplementtrennung nach Sachs und Altmann mit $1/_{990}$ -norm. HCl.

Mittelstück in der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

1)	0,1	1/10	IS.	+ 0,1	1/100	Aufschw.	+ 2,0	Endst.	(= 0,2	Ser.)	+ 0,2	Mittelst.	(= 0,1	Ser.)	+ 0,1	NaCl	1)	5	Kolonien	Resultat
2)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 2,0	"	(= 0,2	"	+ 0,1	"	(= 0,05	"	+ 0,2	"	2)	10	"	100
3)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 2,0	"	(= 0,2	"	+ 0,05	"	(= 0,025	"	+ 0,25	"	3)	Etwa	100	Kolonien
4)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 2,0	"	(= 0,2	"	+ 0,01	"	(= 0,005	"	+ 0,2	"	4)	"	1000	"
5)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 1,0	"	(= 0,1	"	+ 0,4	"	(= 0,2	"	+ 0,9	"	5)	"	50	"
6)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 0,5	"	(= 0,05	"	+ 0,4	"	(= 0,2	"	+ 1,4	"	6)	"	200	"
7)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 0,25	"	(= 0,025	"	+ 0,4	"	(= 0,2	"	+ 1,65	"	7)	"	1000	"
8)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 0,1	"	(= 0,01	"	+ 0,4	"	(= 0,2	"	+ 1,8	"	8)	"	100 000	"
9)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 1,0	"	+ 0,2	Mittelstück	(= 0,1	Serum)	(= 0,05	"	+ 1,1	"	9)	"	100	"
10)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 0,5	"	+ 0,1	"	"	"	(= 0,025	"	+ 1,7	"	10)	"	1000	"
11)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 0,25	"	(= 0,2	Serum)	"	"	"	"	+ 2,0	"	10a)	"	100 000	"
12)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 2,0	"	(= 0,2	Serum)	"	"	"	"	+ 0,3	"	11)	"	f ∞	"
13)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	—	"	+ 0,4	Mittelstück	(= 0,2	Serum)	(= 0,2	Serum)	+ 1,9	"	12)	"	∞	"
13)	0,1	"	"	+ 0,1	"	"	+ 2,0	Endst.	(= 0,2	Ser.)	+ 0,2	Mittelst.	(= 0,2	Ser.)	+ 0,1	"	13)	"	∞	"

Kontrollen

[illegible]

Kontrollen der Trennung im hämolytischen Versuch einwandfrei.

Resultat: Endstück und Mittelstück können sich gegenseitig bis zu einem gewissen Grade vertreten. Vgl. Röhrenchen 10a, 3 u. 7.

Versuch V.

Frisches Meerschweinchen- und Kaninchenserum nach Sachs und Altmann mit $\frac{1}{100}$ norm. HCl gespalten.
Versuchsordnung dieselbe wie in vorigen Versuchen.

IS. = Immuneserum. MS. = Meerschweinchen-Serum, MEST. = Meerschweinchen-Endstück, MMSt. = Meerschweinchen-Mittelstück, KS. = Kaninchen-Serum, KEST. = Kaninchen-Endstück, KMSt. = Kaninchen-Mittelstück.

		Resultat:	
1) 0,1 $\frac{1}{10}$ IS. + 0,1 nat. MS.	+ 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw. + 2,2 NaCl	1) 3 Kolonien.	
2) 0,1 " + 2,0 MEST. (= 0,2 Ser.)	+ 0,1 " + 0,3 "	2) Etwas weniger als 100 000 Kol.	
3) 0,1 " + 0,4 MMSt. (= 0,2 Ser.)	+ 0,1 " + 1,9 "	3) Viele 100 000 Kol.	
4) 0,1 " + 1,0 MEST. + 0,2 MMSt. (= 0,1 Ser.)	+ 0,1 " + 1,3 "	4) 10 Kol.	
5) 0,1 " + 0,1 nat. KS.	+ 0,1 " + 2,2 "	5) 3 Kol.	
6) 0,1 " + 2,0 KEST. (= 0,2 Ser.)	+ 0,1 " + 0,3 "	6) Einige 100 000 Kol.	
7) 0,1 " + 0,4 KMSt. (= 0,2 Ser.)	+ 0,1 " + 1,9 "	7) Viele 100 000 Kol.	
8) 0,1 " + 1,0 KEST. + 0,2 KMSt. (= 0,1 Ser.)	+ 0,1 " + 1,3 "	8) Etwas 100 000 Kol.	
9) 0,1 " + 1,0 MEST. (= 0,1 MS.) + 0,2 KMSt. (= 0,1 KS.)	+ 0,1 " + 1,3 "	9) Etwas 200 Kol.	
10) 0,1 " + 1,0 KEST. (= 0,1 KS.) + 0,2 MMSt. (= 0,1 MS.)	+ 0,1 " + 1,3 "	10) Etwas 100 000 Kol.	
Kontrollen:		Resultat:	
1) 2,4 NaCl + 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw. +	+	1) Etwas 100 000 Kol.	
2) 2,4 " + 0,1 " +	+	2) Viele 100 000 Kol.	
3) 0,4 " + 0,1 " + 2,0 MEST. (= 0,2 Ser.)	+	3) ∞	
4) 0,4 " + 0,1 " + 2,0 KEST. (= 0,2 Ser.)	+	4) f. ∞ (Kol. sehr klein)	
5) 2,0 " + 0,1 " +	+	5) Viele 100 000 Kol.	
6) 2,0 " + 0,1 " +	+	6) Viele 100 000 Kol.	
7) 2,3 " + 0,1 " +	+	7) Einige 100 000 Kol.	
8) 0,5 " +	+	8) \emptyset	
9) 0,5 " +	+	9) \emptyset	
10) 2,1 " +	+	10) \emptyset	
11) 2,1 " +	+	11) \emptyset	
12) 2,4 " +	+	12) 1 Kol.	
13) 2,3 " + 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw. +	+	13) Viele 100 000 Kol.	
14) 2,3 " + 0,1 " +	+	14) Etwas 2000 Kol.	
15) 2,4 " +	+	15) \emptyset	
16) 2,4 " +	+	16) \emptyset	

Resultat: Endstück vom Meerschweinchen in der Menge von 0,2 cem nativen Serums zeigt eine entwicklungshemmende Wirkung. Mittelstück vom Meerschweinchen wirkt nicht bakterizid. Beide zusammen töten sehr stark ab. Kaninchenendstück und Kaninchenmittelstück allein: keine Abtötung. Beide vereint: keine Bakterizide. Meerschweinchenmittelstück kann durch Kaninchenmittelstück ersetzt werden. Kaninchenendstück erweist sich als unwirksam. — Im hämolytischen Kontrollversuch sind beide Komplementanteile des Meerschweinsersums allein inaktiv, zusammen aber gut wirksam.

Endstücke der einzelnen Tiersera bei der Hämolyse gegenseitig vertreten. Es war auf Grund unserer oben angeführten Versuche wahrscheinlich, daß sich diese Tatsache auch beim bakteriziden Komplement wird nachweisen lassen. Wie das folgende Versuchsprotokoll zeigt (s. p. 673), bestand unsere Vermutung zu Recht: das Meerschweinchenmittelstück kann durch dasjenige des Kaninchenserums ersetzt werden.

Wir begegneten bei diesen Experimenten derselben Tatsache, die wir schon bei unseren hämolytischen Versuchen gesehen haben, daß sich nämlich das Kaninchenkomplement durch die Spaltung als sehr stark abgeschwächt erweist, und daß diese Alteration die Endstückkomponente betrifft; dagegen zeigt sich das Mittelstück voll wirksam.

Der Vollständigkeit halber wollen wir noch hinzufügen, daß uns auch die Ersetzung des Meerschweinchenmittelstücks durch die Globulinfraktion des Hammelserums gelungen war.

Diese Vertauschbarkeit des Mittelstückes legt den Gedanken nahe, die in vitro gewonnene Erfahrung im Tierkörper zu erproben, und wir sind mit solchen Versuchen gegenwärtig beschäftigt, die uns zeigen sollen, ob die Zufuhr des ungiftigen, (da ambozeptorfreen) fremdartigen Endstückes die Resistenz gegenüber Infektionen erhöhen kann. Die großen Analogien, die wir zwischen bakterizidem und hämolytischem Komplement gefunden haben, lassen es erwarten, daß auch in anderen Beziehungen ähnliche Verhältnisse obwalten werden, und wir dürfen daher annehmen, daß die meisten Sera in verschiedener Quantität bakterizides Mittelstück enthalten, und daß es das Endstück ist, welches fehlt oder in geringer Menge vorhanden ist. Daß sich das hämolytische Komplement so verhält, haben die Untersuchungen der letzten Zeit gezeigt.

III.

Einige kurze Bemerkungen möchten wir noch hinzufügen über die Rolle des in Kochsalzlösung veränderten Mittelstücks (Brand, Hecker) bei der Bakterizidie (siehe Versuch VI).

Auch hierbei zeigt sich eine vollständige Analogie mit dem Verhalten des hämolytischen Komplements. Das Mittelstück des Meerschweinchen-serums wird in Kochsalzlösung derart verändert, daß es bei gleichzeitigem Endstückzusatz sich als un-

Versuch VI.

Brandsche Modifikation.

14. II. 3,0 cem Meerschweinsenserum nach Sachs-Altmann mit $\frac{1}{100}$ -norm. HCl gespalten, das Mittelstück zweimal mit Aqua destillata gewaschen und sofort in 6,0 cem NaCl gelöst und über Nacht im Kühlraum stehen gelassen = Mittelstück alt. Endstück neutralisiert und ebenfalls im Kühlraum aufbewahrt = Endstück alt.

15. II. Frisches Meerschweinsenserum nach Sachs-Altmann gespalten = Mittel- und Endstück frisch.
IS. = Immunsorum, MSt. = Mittelstück, ESt. = Endstück.

Zur Kenntnis des bakteriziden Komplementes.

675

sofort zugesetzt										Resultat:
1) 0,1 $\frac{1}{10}$ IS.	+ 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw.	+ 0,2 MSt. alt	+ 1,0 ESt. alt	(= 0,1 nat.S.)	$\frac{1}{2}$ spät. zuges.	+ 1,1 NaCl	1)			f ∞
2) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,1 " "	2)			f ∞
3) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,1 " "	3)			f ∞
4) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,1 " "	4)			Etwas 200 Kol.
4a) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,1 " "	4a)			Etwas 100 Kol.
5) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 2,1 " "	5)			∞
6) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 2,1 " "	6)			∞
7) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,3 " "	7)			f ∞
8) 0,1 " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,3 " "	8)			Einige 10000 Kol.
9) — " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,2 " "	9)			∞
10) — " "	" "	+ 0,2 " "	+ 1,0 " "	(= 0,1 " ")	" "	+ 1,2 " "	10)			∞

Kontrollen.										Resultat:
1) 2,4 NaCl	+ 0,1 $\frac{1}{100}$ Aufschw.	—	—	—	—	—	1)			Etwas 100000 Kol.
2) 2,4 " "	" "	—	—	—	—	—	2)			∞
3) 1,4 " "	" "	+ 1,0 ESt. alt	(= 0,1 Ser.)	—	—	—	3)			∞
4) 1,4 " "	" "	+ 1,0 " "	frisch (= 0,1 " ")	—	—	—	4)			∞
5) 2,2 " "	" "	—	—	+ 0,2 MSt. alt	(= 0,1 Ser.)	—	5)			∞
6) 2,2 " "	" "	—	—	+ 0,2 " "	frisch (= 0,1 " ")	—	6)			∞
7) 2,3 " "	" "	—	—	—	—	+ 0,1 $\frac{1}{10}$ IS.	7)			Viele 100000 Kol.
8) 1,5 " "	" "	+ 1,0 ESt. alt	(= 0,1 Ser.)	—	—	—	8)			\emptyset
9) 1,5 " "	" "	+ 1,0 " "	frisch (= 0,1 " ")	—	—	—	9)			\emptyset
10) 2,3 " "	" "	—	—	+ 0,2 MSt. alt	(= 0,1 Ser.)	—	10)			\emptyset
11) 2,3 " "	" "	—	—	+ 0,2 " "	frisch (= 0,1 " ")	—	11)			\emptyset
12) 2,4 " "	" "	—	—	—	—	+ 0,1 $\frac{1}{10}$ IS.	12)			\emptyset

Resultat: In Kochsalzlösung verändertes Meerschweinchenmittelstück ist unwirksam. Durch vorherige Digestion mit den sensibilisierten Bakterien erlangt es seine bakterizide Funktion nicht. Frisches Endstück wirkt schwach bakterizid. (Im hämolytischen Versuch ebenfalls.) Durch Zusatz von frischem Mittelstück wird seine bakterienabtötende Fähigkeit stark gesteigert, durch verändertes Mittelstück vermindert.

wirksam erweist. Während es aber im hämolytischen Versuch gelingt, bei späterem Endstückzusatz die komplettierende Funktion wieder zu restituieren, gelang uns dies im bakteriziden Versuch nicht. Das Ausbleiben der Wirkung im Gegensatz zum hämolytischen Komplement zu erklären ist schwer. Wir würden glauben, daß dies in der Natur des Antigens seinen Grund hat: im bakteriziden Versuch handelt es sich um lebende Organismen, weshalb die Komplementwirkung viel komplizierter ist. Auch die Resultate dieser Versuche bestätigen wiederum, daß das bakterizide Komplement aus Endstück und Mittelstück besteht.

Zusammenfassung.

1) Die bakterizide Komplementwirkung ist die Resultante der Funktionen zweier Serumbestandteile, von denen einer in der Globulinfraction, der andere in dem übrig gebliebenen Serum nachweisbar ist.

Das bakterizide Komplement zeigt denselben Bau wie das hämolytische (Endstück und Mittelstück nach Brand).

2) Bakterizides Endstück und Mittelstück des Meerschweinchenserums können sich bis zu einem gewissen Grade gegenseitig vertreten.

3) Die Mittelstücke der verschiedenen Tiersera kann man gegeneinander vertauschen.

Literatur.

- Liefmann und Stutzer, Berl. klin. Wochenschr., 1910.
 Sachs und Altmann, In: Kraus-Levaditi, Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsf.
 Neisser, M., und Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., 1901, No. 18.
 Neisser, M., Ehrlichs gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung, Berlin 1904, Hirschwald.
 Ferrata, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.
 Brand, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.
 Hecker, Arbeiten aus d. Inst. f. experim. Therapie, 1907, Heft 3.
 Liefmann und Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, No. 1, 2/3; Bd. 7, No. 6; Bd. 8, No. 1.
 Guggenheimer, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, No. 3.
 Marks, H. R., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, No. 4.
 Fraenkel, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1911.
 Braun, H., Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, Heft 1 u. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg; Direktor: Prof. Dr. Dunbar (Abteilung für experimentelle Therapie und Immunitätsforschung).]

Experimentelle Studien über die Beziehungen zwischen Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes.

(Zugleich ein Beitrag zur Frage der Eiweißdifferenzierung in den Körperflüssigkeiten der gleichen Tierart.)

Von Dr. med. **Fr. Graetz.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. März 1911.)

Die biologischen Beziehungen zwischen Milch, Frühmilch und Blutserum der gleichen Tierspecies sind vielfach Gegenstand eingehender experimenteller Studien gewesen. Namentlich mit Hilfe der modernen biologischen Eiweißdifferenzierungsmethoden sind diese Untersuchungen von den verschiedensten Autoren mit mehr oder weniger Glück aufgenommen worden, ohne daß jedoch die Frage bislang als in einheitlichem Sinne gelöst gelten könne.

In einer im Jahre 1901 erschienenen Arbeit hat Hamburger die Beziehungen zwischen Blutserum und Milch des Rindes mit Hilfe der Präzipitationsmethode studiert und dabei festzustellen vermocht, daß ein mit Kuhmilch gewonnenes Antiserum vom Kaninchen nicht nur mit dem Antigen der Vorbehandlung, d. h. der Kuhmilch, ein Präzipitat lieferte, sondern daß auch im Blutserum des Rindes die Bildung eines Präzipitates erfolgte. Auf Grund dieser Tatsache glaubte sich Hamburger zu dem Schluß berechtigt, „daß der Milch und dem Blutserum des Rindes Stoffe gemeinsam sind, die sie als der Gattung Rind angehörig charakterisieren“. Im Gegensatz zu der von hervorragenden Autoren angenommenen „Einheitlichkeit“ der Milcheiweißkörper konnte Hamburger dann weiterhin mit Hilfe der biologischen Eiweißdifferenzierungsmethode Kasein und Albumin der Kuhmilch als zwei biologisch vollständig differente Substanzen identifizieren, welche im Präzipitationsversuch vollkommen spezifische Eigenschaften aufwiesen, indem die mit den genannten Substanzen hergestellten Kaninchenimmunsera ausschließlich mit dem Antigen der Vorbehandlung in Reaktion traten. Bei diesen Untersuchungen trat allerdings eine merkwürdige Tatsache in Erscheinung, welche namentlich im Hinblick auf das Kaseinantiserum befremdet, daß nämlich die beiden Antisera, sowohl das Kasein- wie das Albuminantiserum, im Rinderserum eine deutliche Reaktion hervorriefen.

In einem augenscheinlichen Widerspruch zu den Angaben Hamburgers standen umgekehrt die Befunde Meyers. Der genannte Autor vermochte mit einem Blutantiserum vom Kaninchen keine Gerinnung in der Milch hervorzurufen, eine Tatsache, welche auch durch die Untersuchung von Uhlenhuth eine Bestätigung fand, allerdings mit einer geringen Einschränkung insofern, als Uhlenhuth zwar bei sehr hochwertigen Blutantisera eine leichte Reaktion in der Milch auftreten sah, „welche jedoch nur äußerst schwach und mit der spezifischen Fällung nicht zu verwechseln ist“.

Schloßmann und Moro konnten die Befunde Hamburgers, „daß das Kuhlaktoserum nicht nur die Milch, sondern auch das Blutserum des Rindes fällt“, für die Gattung Mensch bestätigen. Das Menschenlaktoserum „fällte, wenn auch nicht so prompt, aber doch unzweideutig wie Menschenmilch auch menschliches Serum“, eine Tatsache, aus der die Autoren den Schluß ziehen: „Der gelöste Eiweißkörper der Milch (Albumin) ist identisch mit dem oder mit einem der Eiweißkörper des Blutes derselben Gattung.“

Besonders eingehend hat sich I. Bauer mit dem Studium der einschlägigen Fragen beschäftigt und die Untersuchungen der vorstehend genannten Autoren noch insofern erweitert, als er auch das Kolostrum und dessen biologische Stellung zur fertigen Milch und zum Blutserum der gleichen Tierart in den Rahmen seiner Untersuchungen einbezogen hat. Der genannte Autor hat in seinen zahlreichen Untersuchungen, die nichts weniger als eine völlige Uebereinstimmung in ihren Resultaten, sondern sogar zuweilen nicht unerhebliche Widersprüche aufweisen, eine ganze Reihe ebenso interessanter wie merkwürdiger Tatsachen festzustellen vermocht. Zunächst konnte Bauer in einer im Jahre 1909 erschienenen Arbeit „Zur Biologie des Kolostrums“, welche durch die etwas später in der Zeitschrift für experimentelle Therapie und Pathologie erschienene Abhandlung eine erneute Bestätigung und Ergänzung erfahren hat, die Mitteilung machen, daß es ihm gelungen sei, „ein Antiserum gegen Kuhmilch herzustellen, das Kuhmilch bis zu einer Verdünnung 1:100 000 ablenkte, Rinder serum dagegen nicht“. Umgekehrt konnte er ein Menschenantiserum gewinnen, „das nur Menschenserum ablenkte, aber nicht Menschenmilch“. Hingegen präzipitierten alle Antisera gegen Milch die Blutsera derselben Art und umgekehrt auch die Antisera gegen Serumeiweiße die gleichartige Milch.“ Nur das Kolostrum der entsprechenden Tierart nahm in den Versuchen Bauers eine Art Mittelstellung ein. Ein mit Kolostrum hergestelltes Kaninchenimmunserum, welches das Antigen der Vorbehandlung bis 1:100 000 ablenkte, zeigte gegen die Milch der gleichen Tierspecies eine Ablenkung bis 1:10 000 und selbst gegen das Rinderblutserum eine Ablenkung in gleicher Höhe. Des weiteren zeigte sich in diesem Falle noch eine Uebereinstimmung zwischen Präzipitations- und Komplementbindungsmethode, indem das Kolostrumantiserum das Ochsen serum, wie Bauer angibt, „selbstverständlich“ bis zur gleichen Höhe präzipitierte.

Bauer schließt aus diesen vorstehend zitierten, zum Teil doch recht merkwürdig sich widersprechenden Versuchsergebnissen, daß wir im

Kolostrum antigene Stoffe haben, die auch im Blutserum der gleichen Tierart vorkommen, während der Milch diese Antigene des Serums nicht zukommen. Weiterhin bringt nach Auffassung des Autors die „Ablenkungsmöglichkeit der Milch durch das Antiserum eines gleichartigen Kolostrums zum Ausdruck, daß Milch und Kolostrum einer Art auch gleiche Antigene haben, ferner daß im Kolostrum noch besondere der Milch nicht eigene Eiweißstoffe vorhanden sind, die sich auch im Blutserum des betreffenden Tieres finden“.

Die Versuchsergebnisse Bauers sind um so merkwürdiger, als sich die Resultate vorwiegend auf den Ausfall der Komplementbindungsmethode stützen, eine Methode, die von dem genannten Autor doch auf Grund größerer eigener Versuchsreihen als viel feiner und spezifischer gerühmt wird als die Präzipitationsmethode. Die Tatsache, daß verschiedene Körperflüssigkeiten eines einzigen Individuums eine vollkommen differente biologische Reaktionsfähigkeit zeigen, die selbst bei einer so feinen Methode, wie die Komplementbindungsmethode sie darstellt, und in stärkerer Konzentration ein Uebergreifen der Reaktion vermissen läßt, würde an sich nichts Auffallendes bieten, da es ja nach den Untersuchungen von Uhlenhuth u. a. hinreichend bekannt ist, daß z. B. die Linse eine biologische Sonderstellung einnimmt, die nach den neueren Untersuchungen von Uhlenhuth u. a. sogar soweit geht, daß Meerschweinchen gegen ihr eigenes Linseneiweiß anaphylaktisch gemacht werden können. Ferner ist ja auch durch die ausgedehnten Untersuchungen von Dunbar der Beweis erbracht, daß die Geschlechtszellen eine besondere biologische Stellung gegenüber den sonstigen Bestandteilen des Organismus einnehmen, so daß eine biologische Sonderstellung der Milch gegenüber dem Blutserum der gleichen Tierart sicherlich auch nichts Auffälliges an sich hätte. Das Auffallende der Bauerschen Versuchsergebnisse ist lediglich das, daß die genannten Flüssigkeiten wie Milch, Kolostrum und Blutserum differente biologische Beziehungen zueinander zeigen, je nachdem zur Differenzierung die Präzipitation oder die Komplementbildungsmethode zur Anwendung gebracht wird. In all den vorstehend zitierten Versuchen haben wir in der Regel eine mehr oder weniger weitgehende Uebereinstimmung im Ausfall der biologischen Reaktionen, nur bei Verwendung der Anaphylaxie sehen wir auf Grund

der besonderen Feinheit dieser Methode ein Uebergreifen der Reaktion auf verwandte Eiweißarten, die sich mit Komplementbindung und Präzipitation vollkommen differenzieren lassen. Bauer findet es als „selbstverständlich“, daß sein Kolostrum-antiserum mit Milch und Rinderserum im Präzipitations- wie im Komplementbindungsversuch in Reaktion tritt, mißt aber andererseits dem Ausfall seiner Versuche, wonach Milch und Blutserum sich biologisch, je nach Verwendung der einen oder der anderen Differenzierungsmethode, vollkommen different verhalten, so gut wie keine Bedeutung bei. Der übereinstimmende Ausfall der Reaktionen bei den Differenzierungsversuchen zwischen Milch, Kolostrum und Rinderserum, sowohl im Präzipitations- wie im Komplementbindungsversuch, entspricht den heute allgemein gültigen Auffassungen, daß die beiden genannten Methoden, wenn auch auf verschiedenen Grundlagen beruhend, in ihren Resultaten vollkommene Uebereinstimmung zeigen, vielfach sogar mit einer Ueberlegenheit der Komplementbindungsmethode. Demgegenüber muß es unbedingt befremden, daß ein Milchantiserum, welches gegenüber dem Antigen der Vorbehandlung die immerhin beträchtliche Ablenkungsfähigkeit von 1:100000 zeigt und welches mit dem Blutserum der gleichen Tierspecies im Präzipitationsversuch in unzweifelhafte Reaktion tritt, gegenüber dem gleichartigen Blutserum selbst in den stärkeren Konzentrationen keinerlei ablenkende Fähigkeiten entfalten soll. Es liegt in diesen Versuchsergebnissen ein Widerspruch, der angesichts des gewöhnlich beobachteten übereinstimmenden Ausfalls der beiden Eiweißdifferenzierungsmethoden auch dann keine ausreichende Erklärung zu finden vermag, wenn man mit Neisser und Sachs eine Verschiedenheit der bei beiden Methoden zur Wirkung kommenden Antikörper annehmen will. Auf Grund weiterer Versuche hat dann im übrigen Bauer selbst zugeben müssen, daß die von ihm angenommene absolute biologische Differenzierung zwischen Kuhmilch und Rinderserum eine prinzipielle Geltung nicht beanspruchen kann, sondern daß es sich hierbei wahrscheinlich nur um innerhalb weiter Grenzen schwankende und vom Artcharakter der einzelnen Milchsorten abhängige quantitative Verhältnisse handelt. Besonders deutlich konnte der genannte Autor den

Einfluß der quantitativen Verhältnisse beobachten, als er die mit den isolierten Eiweißkörpern der Milch hergestellten Kaninchenimmunsera (Kasein- und Albuminantisera) im biologischen Versuch prüfte. Mit einem Kaseinantiserum gelang es dem Autor, die schon früher von ihm und auch von Hamburger nachgewiesene biologische Spezifität des Kaseins erneut festzustellen, indem das Kaseinantiserum weder mit Kuhmilchalbumin noch mit Rinderserum in Reaktion trat. Dagegen zeigte ein hochwertiges Antiserum gegen Kuhmilchalbumin im Präzipitations- wie im Komplementbindungsversuch eine ausgesprochene Reaktion gegen das Rinderserum. Diese Kontroverse, daß ein gegen die volle Kuhmilch gerichtetes Antiserum mit Rinderserum nicht in Reaktion trat, während ein mit Albumin, also einem Bruchteil der Milch, gewonnenes Antiserum eine unzweideutige Reaktion gab, sucht Bauer in einer ohne Zweifel einleuchtenden Weise zu erklären, indem er die quantitativen Verhältnisse der Milcheiweißkörper dafür verantwortlich macht, daß mit Hilfe eines Kuhlaktoserums die Differenzierung der Milch und des Blutserums des Rindes möglich erscheint. „Dieses Zurücktreten des Albumins der Kuhmilch“, schreibt Bauer, „als Antikörperbildner gegenüber dem Kasein bei der Injektion der Kuhmilch, tritt hauptsächlich bei einer so spezifischen Reaktion wie der Komplementbindungsmethode zutage, bei der, wie wir wissen, fast alle Partialantikörper auf Kosten eines einzigen Hauptantikörpers in den Hintergrund treten.“

Auch die weiteren Untersuchungen Bauers scheinen seine Auffassung über die Rolle der quantitativen Verhältnisse der Eiweißkörper in der Kuhmilch für den jeweiligen Ausfall der biologischen Differenzierungsversuche zwischen der Milch und dem Blutserum des Rindes durchaus zu bestätigen.

In einer weiteren in der Berliner klinischen Wochenschrift 1910 erschienenen Arbeit „Ueber den Artcharakter der Milcheiweißkörper“ weist Bauer erneut auf die Möglichkeit hin, eine Differenzierung zwischen Milch und Blutserum der gleichen Tierart „bis zu einem gewissen Grade zu erzielen, wobei er allerdings gleichzeitig betont, daß diese Differenzierung keineswegs immer vollständig zu erreichen ist“. Die Unvollständigkeit der Differenzierung trifft namentlich für die sogenannten Albuminmilchen zu, wo es sich nach den Angaben des Autors lediglich um quantitative, wenn auch „deutlich ausgesprochene und praktisch darstellbare“ Differenzen handelt.

Bei manchen sogenannten Kolostralmilchen versagt die Differenzierung sogar vollkommen. Auf Grund dieser neueren Versuchsergebnisse modifiziert auch Bauer seine früher ausgesprochene Auffassung, wonach zwar dem Kolostrum gleichartige antigene Stoffe zukommen sollen wie dem Blutserum, aber nicht der Milch, insofern als er zugibt, daß nur dem Kasein der Milch eine besondere Stellung eingeräumt werden muß, während andererseits die biologische Verwandtschaft oder Identität von Eiweißantigenen der Molke und des Blutes unverkennbar sei. Allerdings stellen ja die wenigen derartigen Fälle, in denen eine vollkommene Differenzierung der genannten Flüssigkeiten nicht möglich ist, eine Ausnahme dar.

Trotz der mannigfachen interessanten Fragen, welche sich aus den biologischen Beziehungen zwischen Milch und Kolostrum einerseits und Blutserum der gleichen Tierspecies andererseits namentlich im Hinblick auf die Säuglingsernährung ergeben, haben die Versuche Bauers bis vor kurzem nur eine relativ geringe Beachtung gefunden, ohne indessen auch von anderer Seite einer eingehenderen Nachprüfung unterworfen worden zu sein. Nur A. Bauereisen hat in seiner Habilitationsschrift den genannten Fragen für die Gattung Mensch seine Aufmerksamkeit zugewandt und dabei, wie schon früher Schlossmann und Moro, feststellen können, daß keine absolute „konstitutive“ Spezifität der einzelnen Eiweißkörper bestand, sondern nur ein gradueller Unterschied in quantitativer Richtung zwischen den einzelnen Flüssigkeiten bemerkbar war. Für das Kasein dagegen konnte er in Uebereinstimmung mit Bauer die „konstitutive“ Spezifität erweisen und somit seine biologische Sonderstellung gegenüber den übrigen Eiweißkörpern der genannten Flüssigkeit erneut festlegen.

Auf Veranlassung Dunbars hat vor mehr als Jahresfrist Herr Oberarzt Dr. W. Fromme eine Nachprüfung der Bauerschen Versuche in Angriff genommen, deren Durchführung aber wegen Ablauf seines Kommandos leider vorzeitig unterbrechen müssen. Herr Dr. Fromme hat mir bei seinem Weggang die bis dahin gewonnenen, allerdings relativ geringen Ergebnisse seiner Versuche in liebenswürdigster Weise überlassen, und ich habe dann, einem besonderen Wunsche Dunbars folgend, die weitere Ausführung dieser Versuche übernommen, deren Veröffentlichung sich aus äußeren Gründen leider ebenfalls unliebsam verzögert hat. (Die Versuche waren bereits im August 1910 vollkommen abgeschlossen.)

Aus den mir überlassenen Versuchen Frommes, deren Ergebnisse sich allerdings ausschließlich auf den Ausfall der Komplementbindungsmethode aufbauen, möchte ich, da ich von einer detaillierten Mitteilung der Einzelversuche absehen muß,

nur soviel hervorheben, daß ein mit Rinderblut gewonnenes Kaninchenimmunserum gegenüber der Milch eine durch die Methode nachweisbare, wohl geringere Verwandtschaft zeigte, jedoch nicht spezifisch unterschieden war. Mit diesem an sich nicht sehr hochwertigen Antiserum wurde eine Ablenkung bis 1:5000 gegen das homologe Antigen und eine solche von gleicher Höhe gegen Kolostrum erzielt, während Milch nur bis zu einer Verdünnung 1:100, also 50-mal schwächer, ablenkte. Umgekehrt konnte indessen auch durch ein Milchantiserum eine deutliche Verwandtschaft der Milch gegenüber Rinder-serum festgestellt werden. Die nähere biologische Verwandtschaft des Rinderserums zum Kolostrum zeigte sich auch bei Verwendung eines Kolostrumantisera, welches das homologe Antigen bis 1:10000, das Rinderserum bis 1:5000 ablenkte, gegenüber der Milch aber merkwürdigerweise nur eine Ablenkung von 1:100 zeigte. Dieses Kolostrumantiserum zeigte außerdem noch eine Präzipitation des Rinderserums bis zu einer Verdünnung 1:10000. Von einer absoluten biologischen Differenzierung zwischen Milch und Blutserum des Rindes im Sinne Bauers kann demnach im Hinblick auf diese Versuche, denen allerdings wegen ihrer geringen Zahl eine sehr hohe Beweiskraft nicht zugesprochen werden kann, kaum die Rede sein.

Eigene Versuche.

Auch meine eigenen Versuche befaßten sich mit der Frage, ob Blutserum und Milch derselben Tierspecies biologisch zu trennen seien und außerdem in welchen Beziehungen das sogenannte Kolostrum zu diesen beiden Körperflüssigkeiten stünde. Das Kolostrum, welches ich für meine Versuche verwendete, wurde mir in liebenswürdigster Weise von Herrn Gutsbesitzer Lippert in Hamburg zur Verfügung gestellt und entstammte einer Kuh, welche 4 Wochen zu früh gekalbt hatte. Das Kolostrum, welches 6—17 Stunden nach dem Wurf entnommen worden war, zeigte eine ziemlich dickflüssige Konsistenz und eine leicht bräunliche Färbung. Es wurde durch Zentrifugieren entrahmt und soweit es nicht frisch zur Untersuchung verwendet wurde (Nachweis hämolytischen Komplements), $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert und dann durch Zusatz von Karbol oder Formalin konserviert. Auf die gleiche Art

wurde auch die frisch gewonnene Milch für die Versuche vorbereitet, und es gelang mir auf diese Weise, durch Aufbewahren der Proben im Eisschrank selbst auf Monate hinaus ein durchaus gleichartiges Antigenmaterial unverändert zu erhalten.

Zum Studium der einschlägigen Frage habe ich mich ebenso wie frühere Autoren der Kaninchenimmunsera bedient, welche ich mit den genannten Antigenen nach den üblichen Grundsätzen gewann. Die Differenzierungsversuche wurden fast durchweg gleichzeitig mit der Präzipitations- und Komplementbindungsmethode angesetzt und außerdem noch durch eine größere Anzahl von anaphylaktischen Versuchen ergänzt.

Zunächst habe ich noch einen vergleichenden Versuch mit dem von Herrn Dr. Fromme verwendeten Kolostrumantiserum (Kaninchen 47) angestellt, den ich nachfolgend tabellarisch wiedergeben möchte.

Tabelle I.

A. Präzipitationsversuch.

Unverdünntes Kolostrumantiserum (Kaninchen 47) präzipitiert:

Verdünnung des Antigens	Kolostrum (vom Rind)		Kuhmilch		Rinderserum	
	nach 5 Minuten	nach 20 Minut.	nach 5 Minuten	nach 20 Minut.	nach 5 Minuten	nach 20 Minut.
1:10	+++	+++	+	++	++	+++
1:100	++	+++	+	++	++	+++
1:500	++	+++	Spur	+	++	+++
1:1000	++	+++	⊖	Spur	+	++
1:5000	Spur	+	⊖	⊖	Spur	+
1:10 000	⊖	Spur	⊖	⊖	—	Spur

B. Komplementbindungsversuch.

Der Versuch ist mit 0,1 ccm des Immunserums (Kaninchen 47) angestellt.

Antiserum 47	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis
0,1	1:100	+++	1:100	+++	1:100	+++
0,1	1:500	+++	1:500	+++	1:500	+++
0,1	1:1000	+++	1:1000	++⊖	1:1000	+++
0,1	1:5000	+++	1:5000	+⊖	1:5000	+++
0,1	1:10 000	+++	1:10 000	⊖	1:10 000	++⊖
0,1	1:20 000	++⊖	1:20 000	⊖	1:20 000	+⊖
0,1	1:50 000	+⊖	1:50 000	⊖	1:50 000	⊖
0,1	1:100 000	⊖	1:100 000	⊖	1:100 000	⊖

Erklärung der Zeichen: +++ komplette Hemmung, ++⊖ Spur Hämolyse, +⊖ fast komplette Hämolyse, ⊖ komplette Hämolyse.

Der Ausfall des in der Tabelle aufgeführten Präzipitationsversuches zeigte in Uebereinstimmung mit den Angaben Bauers ein deutliches Uebergreifen der Reaktion auf das Rinderserum, welches in gleicher Höhe und annähernd gleicher Stärke durch das Kolostrumantiserum gefällt wurde, wie das Antigen der Vorbehandlung selbst. Merkwürdigerweise erwies sich das Kolostrum auch bei dieser Versuchsanordnung analog den von Herrn Dr. Fromme mit Hilfe der Komplementbindung gemachten Feststellungen als näher verwandt mit dem Blutserum als mit der Milch der gleichen Tierart. Leider standen mir größere Mengen des Immunserums 47 nicht mehr zur Verfügung, so daß ich von vergleichenden Versuchen mit verschiedenen Milchsorten Abstand nehmen mußte. Eine vollkommen befriedigende Erklärung für den eigenartigen Ausfall der Reaktion, wie er auch in gleicher Weise im Komplementbindungsversuch in Erscheinung trat, vermag ich allerdings nicht zu geben, doch möchte ich auf Grund der mit anderen Immunsera der gleichen Art gewonnenen Erfahrungen der Anschauung Ausdruck geben, daß das zur Immunisierung verwendete Kolostrum wahrscheinlich sehr albuminreich gewesen sein muß und so zur Ausbildung eines Immunserums mit den vorwiegenden Eigenschaften eines Albuminantiserums geführt hat, welches dann eine analoge Reaktionsfähigkeit aufwies wie etwa ein mit Kuhmilch- oder Serumalbumin gewonnenes Immunserum. Der geringe Albumingehalt der von mir zur Immunisierung und als Antigen verwendeten Kuhmilch mag dabei in letzter Linie für das geringe Uebergreifen der Reaktion verantwortlich gemacht werden, so daß auch dieser Versuch im Sinne der Bauerschen Auffassung von der Bedeutung der quantitativen Verhältnisse der Milcheiweißkörper für den Ausfall der Reaktion zu sprechen scheint.

Die von Herrn Dr. Fromme im Komplementbindungsversuch gewonnenen Ergebnisse konnte ich, wie ich schon oben angedeutet habe und wie aus Versuch B der vorstehenden Tabelle hervorgeht, wenigstens im Prinzip bestätigen. Allerdings konnte ich auch gegen Milch eine etwas stärkere Ablenkung feststellen, als dies Fromme möglich war, wenn auch nicht in der gleichen Höhe wie gegen das Antigen der Vorbehandlung und gegen Rinderserum. Ich muß allerdings bemerken, daß ich im Hinblick auf die geringen Mengen des

Immunserums, die mir noch zur Verfügung standen, von einer Auswertung des Immunserums Abstand nehmen und somit nicht die für die Komplementbindungsmethode optimale Serummenge verwenden konnte. Ich habe analog dem Präzipitationsversuch für die Anstellung der Komplementbindungsreaktion eine Antiserummenge von 0,1 ccm verwendet, womit die Möglichkeit vorliegt, daß die relativ schlechten Bindungsverhältnisse des Komplements an sich und namentlich gegenüber der Kuhmilch durch einen Ueberschuß an Immunserum bedingt sein könnten; weiß man ja doch aus den Angaben von Neisser und Sachs, deren Erfahrungen ich aus zahlreichen Versuchen durchaus bestätigen kann, daß unter Umständen größere Serummengen eine weniger vollständige Bindung des Komplements bedingen können als die entsprechend kleineren, aber für das jeweils verwendete Immunserum optimalen Dosen. Zum Vergleich lasse ich nachstehend die Versuchsergebnisse folgen, welche ich mit den von mir gewonnenen verschiedenen Kaninchenimmunsera erzielt habe.

Gleich von vornherein möchte ich bemerken, daß ich entsprechend den bei meinen Differenzierungsversuchen zwischen Mäusen und verschiedenen Rattenarten gemachten Erfahrungen von der Gewinnung solcher Immunsera, welche einen sehr hohen Präzipitationstiter aufwiesen, Abstand nehmen zu können glaubte, da ich in Uebereinstimmung mit Bruck weniger hoch präzipitierende Sera als geeigneter für derartige Differenzierungsversuche gefunden habe. Im Hinblick auf die vorwiegend mit der Komplementbindungsmethode gewonnenen Ergebnisse Bauers habe ich dann auch als Maßstab für die definitive Abnahme des Immunserums den im Komplementbindungsversuch feststellbaren Titer gewählt. Bei der Feststellung des Titers bin ich dabei in der schon bei meinen Rattendifferenzierungsversuchen angegebenen Weise verfahren, daß ich, entsprechend den Vorschriften von Neisser und Sachs, diejenige minimalste Antiserummenge festzustellen suchte, welche noch gegen 0,0001 ccm des homologen Antigens eine komplette Bindung des Komplements ergab. Das $1\frac{1}{2}$ —2-fache Multiplum der so ermittelten Antiserummenge wurde im Hauptversuch zur Anwendung gebracht. Als hämolytisches System diente mir wieder wie in meinen früheren Versuchen gewaschenes Hammelblut in 5-proz. Aufschwemmung, Meerschweinchen-

serum als Komplement, sowie ein vom Kaninchen immunisatorisch gewonnener Ambozeptor gegen Hammelblutkörperchen. Von letzterem wurde die doppelte minimal lösende Dosis verwendet und dagegen in jedem Falle das Komplement ausgewertet. Ich lasse hier als Beispiel die Auswertungstabelle eines derartigen Immunserums folgen.

Kaninchenimmunserum 218 (Rinderantiserum).

Rinderserum	Kaninchen- serum 218	Komplement	Hammelblut (5-proz. Lös.)	Ambozeptor	Ergebnis
0,0001	0,1	6,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,08	0,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,06	0,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,05	0,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,04	0,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,03	0,05	1,0	0,001	+++
0,0001	0,02	0,05	1,0	0,001	++ θ
0,0001	0,01	0,05	1,0	0,001	θ

Auf diese Weise ist es mir gelungen, eine Reihe von Immunsera zu gewinnen, welche sich im Komplementbindungsversuch als praktisch sehr brauchbar erwiesen und außerdem meist auch noch einen, wenn auch nicht sehr hohen, praktisch doch immerhin verwertbaren Präzipitationstiter aufwiesen. Nur die Herstellung eines wirklich hochwertigen Kuhlaktoserums ist mir trotz zahlreicher Versuche nicht gelungen, wenn auch der von mir erzielte maximale Ablenkungstiter praktisch für den Differenzierungsversuch sich als ausreichend erwies. Ich gebe hier einzelne Versuchsbeispiele in extenso wieder. Von einer detaillierten Wiedergabe aller Versuchsprotokolle glaube ich, soweit es sich um gleichartige und namentlich um übereinstimmende Versuche handelt, absehen zu können.

Tabelle II.

A. Präzipitationsversuch.

Unverdünntes Rinderantiserum (Kaninchen 218) präzipitiert:

Verdünnung des Antigens	Kolostrum (vom Rind)		Kuhmilch		Rinderserum	
	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.
1:10	+	++	Spur	+	++	+++
1:100	+	++	—	Spur	++	+++
1:500	Spur	+	—	—	++	+++
1:1000	—	?	—	—	+	++
1:5000	—	—	—	—	Spur	+
1:10 000	—	—	—	—	—	Spur

B. Komplementbindungsversuch.

Der Versuch ist mit 0,04 ccm des Immunserums (Kaninchen 218) angestellt.

Antiserum 218	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis
0,04	1 : 100	+++	1 : 100	+++	1 : 100	+++
0,04	1 : 500	+++	1 : 500	++ θ	1 : 500	+++
0,04	1 : 1000	+++	1 : 1000	+ θ	1 : 1000	+++
0,04	1 : 5000	++ θ	1 : 5000	θ	1 : 5000	+++
0,04	1 : 10 000	+ θ	1 : 10 000	θ	1 : 10 000	+++
0,04	1 : 20 000	+ θ	1 : 20 000	θ	1 : 20 000	+++
0,04	1 : 50 000	θ	1 : 50 000	θ	1 : 50 000	+++
0,04	1 : 100 000	θ	1 : 100 000	θ	1 : 100 000	+++

Der Ausfall der beiden vorstehenden Versuche weist einen vollkommenen Parallelismus auf, indem das Immunserum naturgemäß die stärkste Affinität zu dem Antigen der Vorbehandlung, d. h. dem Rinderserum, zeigt. Dem Rinderserum biologisch am nächsten steht das Kolostrum, während die Milch eine geringere aber ebenfalls unverkennbare Verwandtschaft zu dem Rinderserum erkennen läßt. Der Ausfall dieser beiden Versuche zeigt jedenfalls, daß diesen drei Flüssigkeiten Eiweißkörper gemeinsam sind, welche sie, um mit Hamburger zu sprechen, „als der Gattung Rind zugehörig charakterisieren“. Das Kolostrum zeigt entsprechend seiner weniger fortgeschrittenen Entwicklung eine größere biologische Affinität zum Rinderserum, von dem ja die Milchdrüse „in letzter Linie ihr Nährmaterial bezieht“ (Bauer). Diese nähere biologische Verwandtschaft muß wohl als der Ausdruck eines höheren Albumin- und Globulingehaltes der Frühmilch gegenüber der fertigen Milch gelten, ein Zustand, wie er wahrscheinlich durch die Involution des Gesamtorganismus während der Gravidität hervorgerufen wird und sich bei Eintritt normaler Verhältnisse insofern verändert, als dann in der fertigen Milch eine Verschiebung der quantitativen Verhältnisse der Eiweißkörper zugunsten des Kaseins eintritt¹⁾. Daß eine derartige Verschiebung

1) Bauer neigt in seiner neuesten Abhandlung zu der Anschauung, „daß sich in der Kolostralzeit Prozesse in der Brutdrüse abspielen, die der Entzündung zum mindesten nicht fernstehen“. Der Unterschied zwischen Milch- und Kolostrumbildung würde nach dem genannten Autor darin liegen, „daß in dem einen Falle mehr die sekretorische, im andern die exkretorische Komponente der Drüsentätigkeit im Vordergrunde steht“.

der quantitativen Verhältnisse unter Umständen schon kurze Zeit nach erfolgtem Partus eintreten kann, dafür spricht die von Bauer bekanntlich systematisch festgestellte Abnahme des Komplementgehaltes des Kolostrums, welche mit zunehmender Entfernung vom Tag der Geburt ab proportional eintritt. Auch der nachfolgende Vergleichsversuch scheint mir, wenn auch keine bindenden Schlüsse daraus gezogen werden können, immerhin eine Deutung in obigem Sinne zuzulassen.

Tabelle III.

Komplementbindungsversuch.

Der Versuch ist mit 0,03 ccm Rinderantiserum (Kaninchen 186) angestellt.

Anti- serum 186	Kolostrum 1 und 2		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- ver- dünnung	Ergebnis 1 2	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis
0,03	1:100	+++	+++	1:100	+++	+++
0,03	1:500	+++	+++	1:500	+++	+++
0,03	1:1000	+++	+++	1:1000	++ θ	+++
0,03	1:5000	+++	++ θ	1:5000	+ θ	+++
0,03	1:10 000	++ θ	+ θ	1:10 000	θ	+++
0,03	1:20 000	+ θ	θ	1:20 000	θ	+++
0,03	1:50 000	θ	θ	1:50 000	θ	+++
0,03	1:100 000	θ	θ	1:100 000	θ	++ θ

Wenn auch die Unterschiede, welche in der Reaktionsbreite zwischen den beiden nach 6 und 17 Stunden entnommenen Kolostrumproben (1 und 2) in Erscheinung treten, keine sehr großen sind, was namentlich im Hinblick auf die Feinheit der Differenzierungsmethode in Berücksichtigung gezogen werden muß, so ist immerhin bei der 17 Stunden nach dem Wurf entnommenen 2. Probe eine Annäherung der Reaktion an die Reaktionsbreite der ausgebildeten Milch unverkennbar. In geringem Maße ist im übrigen diese veränderte Reaktionsfähigkeit der zweiten Kolostrumprobe auch bei der Feststellung des Komplementgehaltes zum Ausdruck gekommen, eine Tatsache, auf die ich noch bei den einschlägigen Versuchen zurückkommen werde. Prinzipiell ändert indessen auch der Ausfall dieser Reaktion nichts daran, daß von qualitativen Differenzen, wie sie etwa zwischen Linse und Geschlechtszellen einerseits und den übrigen Bestandteilen des Organismus andererseits in Erscheinung treten, bei Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes keine Rede sein kann. Quantitative Unterschiede

sind in den drei Flüssigkeiten mit den beiden Differenzierungsmethoden übereinstimmend nachweisbar, eine Tatsache, auf die mehrfach von anderer Seite schon hingewiesen wurde.

In einem merkwürdigen Gegensatz zu den vorstehenden Versuchsergebnissen stehen die Resultate, die ich mit mehreren Milchantisera übereinstimmend gewonnen habe. Im Hinblick auf den durchaus übereinstimmenden Ausfall der Reaktion glaube ich mich auf die Wiedergabe des einen Versuchs, wie ich ihn mit dem Kaninchenimmunserum 232 gewonnen habe, beschränken zu können. Bei dem geringen Präzipitationstiter des Serums, welches eben noch bei einer Verdünnung 1:1000 des Antigens eine nachweisbare Präzipitation ergab, war von vornherein ein starkes Uebergreifen der Reaktion auf die verwandten Antigene nicht zu erwarten. Das Kolostrum wurde zwar annähernd in gleicher Höhe präzipitiert, doch trat im Rinderserum selbst in den stärkeren Konzentrationen eine sichere Präzipitation nicht auf, wenn auch bei Vermischen des Immunserums mit dem zehnfach verdünnten Rinderserum eine Trübung auftrat, die aber den Anspruch, als spezifische Präzipitation angesprochen zu werden, nicht erheben konnte.

Bei Auswertung des Immunserums 232 im Komplementbindungsversuch erwies sich die Dosis von 0,02 ccm als vollkommen ausreichend, um mit dem homologen Antigen bei einer Dosis von 0,0001 ccm eine vollkommene Ablenkung des Komplements zu bewirken. Zur Anstellung des Versuches selbst wurde 0,04 ccm des Immunserums verwendet und damit eine komplette Bindung des Komplementes selbst gegen eine Verdünnung 1:20 000 des homologen Antigens erzielt.

Komplementbindungsversuch.

Der Versuch ist mit 0,04 ccm des Immunserums (Kaninchen 232) angestellt.

Antiserum 232	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis
0,04	1:100	+++	1:100	+++	1:100	⊖
0,04	1:500	+++	1:500	+++	1:500	⊖
0,04	1:1000	+++	1:1000	+++	1:1000	⊖
0,04	1:5000	+++	1:5000	+++	1:5000	⊖
0,04	1:10 000	+++	1:10 000	+++	1:10 000	⊖
0,04	1:20 000	++⊖	1:20 000	++⊖	1:20 000	⊖
0,04	1:50 000	+⊖	1:50 000	+⊖	1:50 000	⊖
0,04	1:100 000	⊖	1:100 000	⊖	1:100 000	⊖

In Uebereinstimmung mit den mehrfach gemachten Angaben Bauers ist aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich, daß das zum Versuch verwendete Kuhlaktoserum eine vollständige Differenzierung des Blutserums gegenüber der Milch und dem Kolostrum der gleichen Tierart ermöglicht. Bauer hat sich ja bekanntlich im Hinblick auf ähnliche Erscheinungen dahin ausgesprochen, daß die Möglichkeit der Differenzierung von Milch und Serum mit Hilfe eines Kuhlaktoserums „durch das Zurücktreten des Albumins der Kuhmilch als Antikörperbildner gegenüber dem Kasein bei der Injektion“ bedingt wird, d. h. daß das Kuhlaktoserum vorwiegend als Kaseinantiserum zu gelten hat, dessen Eigenschaften namentlich bei der Komplementablenkung zutage treten, wo „fast alle Partialantikörper auf Kosten eines einzigen Hauptantikörpers in den Hintergrund treten“. Ich vermag mich dieser Anschauung Bauers nur bis zu einem gewissen Grade anzuschließen und möchte jedenfalls darauf hinweisen, daß auch wohl die Reaktionsfähigkeit des Versuchstiers und die Neigung des Organismus, bei der Einverleibung eines Gemisches von Antigenen bald mehr gegen den einen, bald gegen den andern Eiweißkörper Antikörper zu bilden, entscheidend ins Gewicht fällt für die spätere Reaktionsbreite des Immunserums. Ich möchte dieses individuelle Verhalten der einzelnen Immunsera an einigen Versuchsbeispielen demonstrieren, die ich mit verschiedenen Kolostrumantisera vom Kaninchen erzielt habe. Die Antisera sind unter durchaus gleichen Bedingungen gewonnen und doch zeigt sich trotz der gleichen Wirksamkeit gegenüber dem homologen Antigen ein prinzipieller, nicht nur ein gradueller Unterschied in der Avidität der Immunsera gegenüber dem Rinderserum.

A. Präzipitationsversuch.
Kolostrumantiserum (Kaninchen 206) präzipitiert.

Verdünnung des Antigens	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.
1:10	++	+++	++	+++	+	++
1:100	++	++	+	++	+	++
1:500	+	++	Spur	+	+	++
1:1000	Spur	+	ø	Spur	Spur	+
1:5000	ø	Spur	ø	ø	ø	Spur
1:10 000	ø	ø	ø	ø	ø	ø

B. Komplementbindungsversuch.

Der Versuch ist mit 0,08 ccm des Immunserums (Kaninchen 206) angestellt.

Antiserum 206	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis	Serum- ver- dünnung	Ergebnis
0,08	1:100	+++	1:100	+++	1:100	+++
0,08	1:500	+++	1:500	+++	1:500	+++
0,08	1:1000	+++	1:1000	+++	1:1000	+++
0,08	1:5000	+++	1:5000	+++	1:5000	+++
0,08	1:10 000	+++	1:10 000	+++	1:10 000	+++
0,08	1:20 000	+++	1:20 000	+++	1:20 000	+++
0,08	1:50 000	++ θ	1:50 000	+ θ	1:50 000	++ θ
0,08	1:100 000	θ	1:100 000	θ	1:100 000	θ

Wie aus den vorstehenden Tabellen ersichtlich ist, zeigt das Kolostrumantiserum 206 gegenüber den beiden verwandten Antigenen eine fast gleichstarke Affinität, die der Reaktionsfähigkeit des Antiserums gegenüber dem Antigen der Vorbehandlung kaum merklich nachsteht. Von einem Prävalieren eines Hauptantikörpers zu ungunsten der Partialantikörper im Sinne Bauers kann im vorliegenden Falle keine Rede sein. Der vorstehende Versuch stimmt ja außerdem auch insofern mit den Angaben Bauers überein, daß das Kolostrumantiserum sowohl im Präzipitationsversuch wie im Komplementbindungsversuch mit Kuhmilch und Rinderserum in annähernd gleicher Stärke in Reaktion tritt wie mit dem Antigen der Vorbehandlung. Ich habe dieses Verhalten des Kolostrumantiseraums bei wiederholten Prüfungen stets in gleicher Weise wieder feststellen können und auch bei Verwendung eines auf gleiche Art gewonnenen zweiten Kolostrumantiseraums (Kaninchen 215) durchaus die gleichen Verhältnisse zu konstatieren vermocht. Um so merkwürdiger berührte mich der Ausfall der Reaktion bei Verwendung des unter gleichen Immunisierungsbedingungen gewonnenen Kolostrumantiseraums 207, den ich in nachfolgender Tabelle wiedergeben möchte.

A. Präzipitationsversuch.

Kolostrumantiserum (Kan. 207) präzipitiert:

Verdünnung des Antigens	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.	nach 5 Min.	nach 20 Min.
1:10	++	+++	++	+++	+	++
1:100	++	+++	+	++	+	++
1:500	+	++	Spur	+	Spur	+
1:1000	Spur	+	—	Spur	—	Spur
1:5000	ø	Spur	—	—	—	—
1:10 000	ø	ø	—	—	—	—

B. Komplementbindungsversuch.

Anti- serum 207	Kolostrum		Kuhmilch		Rinderserum	
	Serum- verdünnung	Ergebnis	Serum- verdünnung	Ergebnis	Serum- verdünnung	Ergebnis
0,08	1:100	+++	1:100	+++	1:100	ø
0,08	1:500	+++	1:500	+++	1:500	ø
0,08	1:1000	+++	1:1000	+++	1:1000	ø
0,08	1:5000	+++	1:5000	+++	1:5000	ø
0,08	1:10 000	+++	1:10 000	+++	1:10 000	ø
0,08	1:20 000	+++	1:20 000	+++	1:20 000	ø
0,08	1:50 000	+ø+	1:50 000	+ø	1:50 000	ø
0,08	1:100 000	+ø	1:100 000	ø	1:100 000	ø

Der Versuch ist mit 0,08 ccm des Immunserums Kan. 207 angestellt.

Der Ausfall des vorstehenden Versuches ist um so merkwürdiger, als wir im Präzipitationsversuch ein Uebergreifen des Antiserums auf Rinderserum beobachten können und die Stärke der Reaktion nur relativ wenig hinter der beim homologen Antigen beobachteten Reaktionsbreite zurückbleibt. Allgemeinen Erfahrungen entsprechend wäre demnach auch im Komplementbindungsversuch ein Uebergreifen der Reaktion auf das Rinderserum zu erwarten gewesen, wie ich es ja auch für die anderen Immunsera der gleichen Art feststellen konnte. Haendel und Steffenhagen haben allerdings in letzter Zeit bei ihren Auswertungsversuchen präzipitierender Sera feststellen können, daß ein starkes Präzipitationsvermögen eines Immunserums keineswegs eine hohe komplementbindende Fähigkeit des gleichen Immunserums ohne weiteres in sich schließt, wie dies ja in der Literatur ziemlich allgemein angenommen wird, sondern daß die komplementbindende Kraft

unter Umständen beträchtlich hinter dem Präzipitationstiter des Serums zurückbleiben kann. Ich habe zwar in meinen eigenen Auswertungsversuchen Fälle wie den vorliegenden, daß der Komplementbindungstiter gegenüber dem Präzipitationsvermögen eines Immunserums so erheblich zurückbleibt, bislang nicht beobachtet, sondern in der Regel einen höheren, vielfach allerdings auch einen dem Präzipitationswert gerade entsprechenden Komplementbindungstiter feststellen können. Ob und inwieweit es sich bei dem vorliegenden Fall um Erscheinungen handelt, wie Haendel und Steffenhagen sie beschrieben haben, oder nur um ein Prävalieren eines Hauptantikörpers auf Kosten der Partialantikörper im Sinne der Bauerschen Auffassung, vermag ich nicht zu entscheiden. Im übrigen spricht der Versuch durchaus im Sinne meiner Auffassung von der Bedeutung der individuellen Reaktionsfähigkeit des Immuntieres für die spätere Reaktionsbreite des Immunserums; denn wir sehen aus einem Vergleich der vorstehenden Versuchsergebnisse, daß es, selbst die gleichen Immunisierungsbedingungen und die Verwendung des gleichen Antigens zur Immunisierung und zur Anstellung der Reaktion vorausgesetzt, durchaus von der Eigenart des einzelnen Immunserums abhängt, ob bei durchaus gleichen quantitativen Verhältnissen der Eiweißkörper bei den verschiedenen Antigenen eine Differenzierung der einzelnen Flüssigkeiten untereinander ermöglicht wird oder nicht.

Auf Grund der Komplementbindungs- und Präzipitationsversuche können wir jedenfalls von einer absoluten Differenzierungsmöglichkeit zwischen Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes nicht sprechen. Durch die quantitativen Verhältnisse der in den genannten Flüssigkeiten enthaltenen Eiweißkörper und namentlich durch das individuelle Verhalten der zum Differenzierungsversuch jeweils verwendeten Immunsera ist im einzelnen Fall die Möglichkeit einer vollständigen oder nur teilweisen Differenzierung der genannten Flüssigkeiten bedingt.

Anaphylaxieversuche.

Auch die Anaphylaxiereaktion hat bis jetzt bezüglich des biologischen Verhaltens von Milch und Blutserum ebensowenig

einheitliche Resultate ergeben wie Präzipitation und Komplementbindungsmethode. Zwar liegt bezüglich des gegenseitigen Verhaltens zwischen Milch und Rinderserum die Angabe Besredkas vor, daß mit Rinderserum vorbehandelte Meerschweinchen nur bei der Prüfung mit Rinderserum, nicht aber, wenn sie mit Milch nachbehandelt wurden, anaphylaktisch reagierten, wirklich systematischere Untersuchungen aber sind in dieser Richtung erst durch Uhlenhuth und Haendel vorgenommen worden. Aus den Versuchen der genannten Autoren geht hervor, „daß mit frischer Milch vorbehandelte Meerschweinchen auch auf eine Prüfungsinjektion mit gekochter Milch und mit Serum und ebenso mit Serum sensibilisierte Tiere auch auf die Nachbehandlung mit frischer Milch unter anaphylaktischen Erscheinungen reagieren“. Andererseits geht aus den passiven Anaphylaxieversuchen der genannten Autoren hervor, „daß mit einem Rinderserum präzipitierenden Antiserum anaphylaktisch gemachte Meerschweinchen sich gegenüber einer nach 24 bzw. 48 Stunden erfolgten Prüfungsinjektion mit frischer oder gekochter Milch im allgemeinen refraktär verhielten“, ohne daß dies jedoch für die frische Milch absolut Geltung hätte. Sowohl bei der aktiven wie bei der passiven Anaphylaxie machten sich in den Versuchen der Autoren bei den Versuchstieren Erscheinungen geltend, die nach Anschauung der Autoren sowohl als ein Uebergreifen der Reaktion gedeutet werden können, als auch die Annahme zulassen, daß eine gegen Milcheiweiß und gegen Serumeiweiß gerichtete Anaphylaxie getrennt nebeneinander bestehen. Eine völlige Klarheit über diese Frage vermochten indessen die Versuche nicht zu bringen. Eine absolute Differenzierung von Serum und frischem Milcheiweiß war also weder mit aktiver noch mit passiver Anaphylaxie in unzweifelhafter Weise möglich, wenn sich auch quantitative Differenzen bemerkbar machten. Ich habe im großen und ganzen, wie ich hier schon vorausschicken möchte, übereinstimmende Resultate mit Uhlenhuth und Haendel erzielt. Erweitert sind meine Versuche nur noch insofern, als ich auch bei dieser Versuchsanordnung das Kolostrum in den Rahmen meiner Experimente einbezogen habe. Ich lasse die Versuchsprotokolle zunächst in extenso folgen.

Versuch 1.

M.S. 1. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subkutan.

11. VI. 1,0 ccm inakt. und entgiftetes Rinderserum intrav.

Tier geht innerhalb weniger Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen (Dyspnoe, Krämpfe, Temperaturabfall 35,5°) zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, überlagert das Herz zum größten Teil, mit zahlreichen subpleuralen Blutungen im anämischen Gewebe. Herz schlägt noch, prall mit flüssigem Blut gefüllt, ohne Koagula. Stauung in den Abdominalorganen, geringe Nebennierenblutungen.

Versuch 2.

M.S. 12. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

15. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen (inspiratorische Dyspnoe, Temperaturabfall, Krämpfe etc.) zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, mit vereinzelt Blutungen, überlagert das Herz zum größten Teil. Kein Lungenödem. Herz prall mit flüssigem Blut gefüllt, schlägt noch. Stauung in den Abdominalorganen.

Versuch 3.

M.S. 10. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

15. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht mit ganz vereinzelt Blutungen im anämischen Gewebe, kein Lungenödem. Persistenz der Herzbewegungen, Blut flüssig.

Versuch 4.

M.S. 11. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

11. VI. 1,0 ccm Kuhmilch intrav.

Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen, Temperatur normal.

Nach 1 Stunde 1,0 ccm inaktiviertes und entgiftetes Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, ohne Blutungen. Herz zeigt noch deutliche Schläge, Blut flüssig.

Versuch 5.

M.S. 8. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

11. VI. 1,0 ccm Kolostrum 2 (vom 16. III.) intrav.

Tier zeigt keine Krankheitserscheinungen, Temperatur normal.

Nach 1 Stunde 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht mit vereinzelt Blutungen, kein Lungenödem. Herz schlägt, mit flüssigem Blut gefüllt.

Versuch 6.

M.S. 9. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

11. VI. 1,0 ccm Kolostrum 2 (vom 16. III.) intrav.

Tier zeigt deutliche anaphylaktische Erscheinungen (inspiratorische Dyspnoe, Krämpfe, Temperaturabfall), erholt sich nach einiger Zeit vollkommen wieder.

13. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen.

Versuch 7.

M.S. 13. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

15. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier zeigt schwere typische Krankheitserscheinungen, erholt sich aber vollkommen wieder.

17. VI. 1,0 ccm Rinderserum inakt. und entgiftet intrav.

Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen.

Versuch 8.

M.S. 14. 13. VI. 0,1 ccm Rinderserum subk.

16. VIII. 1,0 ccm Kuhmilch intrav.

Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen.

Nach 1 Stunde 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, ohne Oedem, Herz schlägt noch, enthält flüssiges Blut ohne Koagula.

Versuch 9.

M.S. 15. 13. V. 0,1 ccm Rinderserum subk.

15. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Symptomen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, überlagert das Herz zum größten Teil, Lungengewebe anämisch, mit Blutungen verschiedener Stärke. Herz schlägt noch, Blutflüssig, keine Koagula.

Versuch 10 und 11.

M.S. 16 und 17. 13. V. je 0,1 ccm Rinderserum subk.

15. VI. je 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Die Tiere gehen akut unter anaphylaktischen Symptomen zugrunde.

Anatomischer Befund: Vergleiche M.S. 15.

Aus den vorstehenden Versuchstabellen geht hervor, daß es mir bei Meerschweinchen, welche mit 0,1 ccm Rinderserum sensibilisiert worden waren, nach einer Inkubationszeit von

ca. 4 Wochen gelungen war, nicht nur durch Reinjektion des homologen Antigens, sondern auch durch Reinjektion von Kolostrum typische Anaphylaxie mit meist letalem Ausgang auszulösen. Im Gegensatz hierzu vermochte die Nachimpfung mit Milch bei der gleichen Sensibilisierung in keinem dieser Fälle einen sicheren anaphylaktischen Shock auszulösen. Wurde etwa eine Stunde nach der Reinjektion mit Milch eine entsprechende Menge des homologen Antigens reinjiziert, so traten prompte tödliche anaphylaktische Erscheinungen ein, welche das Vorhandensein einer mangelnden Sensibilisierung der Versuchstiere von vornherein auszuschließen erlauben. Meine Versuchsergebnisse stellen somit eine Bestätigung der von Besredka gemachten Angaben dar, daß mit Rinder-serum vorbehandelte Meerschweinchen nur bei der Prüfung mit Rinder-serum, nicht aber, wenn sie mit Milch nachbehandelt wurden, anaphylaktisch reagierten. Die Angaben von Uhlenhuth und Haendel, wonach bei den mit Rinder-serum sensibilisierten Versuchstieren auch bei Reinjektion von Milch ein anaphylaktischer Shock auftrat, vermochte ich nur insoweit zu bestätigen, als für die Reinjektion Kolostrum, d. h. Frühmilch, verwendet wurde. Daß indessen eine vollständige Differenzierung auch im anaphylaktischen Shock zwischen Milch und Rinder-serum nicht möglich ist, zeigen die Ergebnisse der nachfolgenden Versuche, in welchen ein Vertauschen der zur Sensibilisierung bzw. zur Reinjektion verwendeten Antigene stattgefunden hat. (Die Sensibilisierung ist bei diesen Tieren in gleicher Weise wie bei der ersten Gruppe subkutan vorgenommen worden, allerdings mit einer erheblich größeren Menge des Antigens, da sich Dosen von 0,1 ccm und 0,01 ccm bei einer Reihe von Vorversuchen als ungenügend erwiesen hatten, um eine ausreichende Sensibilisierung gegen das homologe Antigen herbeizuführen.)

Versuch 12.

M.S. 18. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

15. VI. 1,0 ccm inakt. und entgiftetes Rinder-serum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen (Dyspnoe, inspiratorischer Temperaturabfall, Krämpfe) zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett emphysematös gebläht, ohne Oedem. Parenchym anämisch ohne Blutungen. Herz von der Lunge überlagert, schlägt noch, enthält flüssiges Blut, keine Koagula.

Versuch 13.

M.S. 19. 14. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

15. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter inspiratorischer Dyspnoe und Krämpfen zugrunde. Temperatur 35,2°.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, mit ausgedehnten Blutungen. Herz schlägt noch, enthält flüssiges Blut, keine Koagula. Kein Lungenödem. Stauung in den Abdominalorganen.

Versuch 14.

M.S. 20. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

11. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, ohne Blutungen. Reines Lungenemphysem ohne Oedem. Herz schlägt noch, mit flüssigem Blut gefüllt, ohne Koagula.

Versuch 15.

M.S. 21. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

11. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Symptomen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, ohne Blutungen, ohne Oedem. Herz schlägt noch, mit flüssigem Blut gefüllt, ohne Koagula.

Versuch 16.

M.S. 22. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

11. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Vgl. MS. 21.

Versuch 17.

M.S. 23. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

15. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen.

17. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier zeigt schwere anaphylaktische Erscheinungen (Temperatur 35,2°, inspiratorische Dyspnoe, Krämpfe). Tier erholt sich nach einiger Zeit wieder vollkommen.

Versuch 18.

M.S. 24. 13. V. 1,0 ccm Kuhmilch subk.

15. VI. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett emphysematös gebläht, ohne Oedem. Parenchym anämisch, mit vereinzelt Blutungen. Herz schlägt noch, enthält flüssiges Blut.

Eine Sensibilisierung mit Kolostrum hatte, wie aus den nachfolgenden Versuchen ersichtlich ist, durchaus den gleichen Effekt.

Versuch 19.

M.S. 25. 13. V. 1,0 ccm Kolostrum subk.

11. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, mit mäßig zahlreichen Blutungen im anämischen Gewebe, kein Lungenödem. Herz schlägt noch, enthält flüssiges Blut, keine Koagula.

Versuch 20.

M.S. 26. 13. V. 1,0 ccm Kolostrum subk.

11. VI. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde (inspiratorische Dyspnoe, Temperaturabfall, Krämpfe).

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, mit ausgedehnten Blutungen im anämischen Gewebe, kein Lungenödem. Herz schlägt noch, enthält flüssiges Blut, keine Koagula.

Versuch 21.

M.S. 27. 13. VI. 1,0 ccm Kolostrum subk.

16. VIII. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Typischer anaphylaktischer Befund. Subpleurale Blutungen.

Versuch 22.

M.S. 28. 13. VI. 1,0 ccm Kolostrum subk.

23. VIII. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier geht akut unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Vgl. MS. 26. Vereinzelt subpleurale Blutungen.

Versuch 23 und 24.

M.S. 29 und 30. 15. VI. je 1,0 ccm Kolostrum subk.

23. VIII. je 1,0 ccm Kuhmilch intrav.

Tiere gehen unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, mit Blutungen im anämischen Gewebe, kein Lungenödem. Herz schlägt noch, flüssiges Blut, keine Koagula.

Versuch 25.

M.S. 31. 15. VI. 1,0 ccm Kolostrum subk.

23. VIII. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier zeigt schwere anaphylaktische Erscheinungen (inspiratorische Dyspnoe, Temperaturabfall 33,6°, deutliche, mäßig starke Krämpfe). Nach ca. 2 Stunden Tier wieder vollkommen munter.

Nach 24 Stunden 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier zeigt nur geringe Erscheinungen, erholt sich schnell wieder.

Versuch 26.

M.S. 32. 15. VI. 1,0 ccm Kolostrum subk.

23. VIII. 1,0 ccm Rinderserum intrav.

Tier zeigt schwere Krankheitserscheinungen. Temperatur 34,4°. Erholt sich nach 2 Stunden wieder.

24. VIII. 1,0 ccm Kolostrum intrav.

Tier geht akut unter typischen Symptomen zugrunde.

Anatomischer Befund: Lunge komplett gebläht, anämisch, mit zahlreichen ausgedehnten Blutungen.

Im Gegensatz zu den in der ersten Gruppe aufgeführten Versuchen, in denen die mit Rinderserum sensibilisierten Versuchstiere nur auf eine Reinjektion des homologen Antigens bzw. auf eine solche des Kolostrums anaphylaktisch reagiert hatten, während sie sich auf eine Nachimpfung mit Milch vollkommen refraktär verhielten, sehen wir bei einer Sensibilisierung der Versuchstiere mit Milch so gut wie regelmäßig einen tödlichen anaphylaktischen Shock auftreten, gleichgültig, ob zur Reinjektion das homologe Antigen oder ob Kolostrum bzw. Rinderserum verwendet wurden. Ich befinde mich mit den zuletzt angeführten Versuchsergebnissen in vollkommener Uebereinstimmung mit den Angaben von Uhlenhuth und Haendel. Auch die genannten Autoren hatten ja bei ihren einschlägigen Versuchen festzustellen vermocht, daß Meerschweinchen, die mit Milch sensibilisiert worden waren, nicht nur auf eine Reinjektion des homologen Antigens, sondern auch auf eine Injektion von Rinderserum anaphylaktisch reagierten. Daß eine Sensibilisierung mit Kolostrum den gleichen Effekt haben mußte, war nach dem Ausfall der in der ersten Gruppe ausgeführten Versuche und namentlich im Hinblick auf die mit Hilfe unserer Eiweißdifferenzierungsmethoden festgestellten weitaus engeren biologischen Be-

ziehungen zwischen Kolostrum und Rinderserum von vornherein zu erwarten gewesen.

In einem gewissen Parallelismus zu den mit Komplementbindung und Präzipitation gewonnenen Ergebnissen geht auch aus den Anaphylaxieversuchen unzweideutig hervor, daß sich nur das Kolostrum als unabhängig von der jeweils gewählten Versuchsanordnung erwies, während Milch und Rinderserum bald als völlig fremd, bald als biologisch verwandt reagierten, je nachdem die eine oder die andere der beiden Flüssigkeiten zur Sensibilisierung der Versuchstiere verwendet wurde. Es liegt in diesem vollkommen verschiedenen Ausfall der Versuche eine Kontroverse, die entschieden der Erklärung bedarf.

Was zunächst die von mir in Uebereinstimmung mit Besredka festgestellte Tatsache anlangt, daß die mit Rinderserum vorbehandelten Meerschweinchen im Gegensatz zu den von Uhlenhuth und Haendel gemachten Beobachtungen auf eine Reinjektion mit Kuhmilch nicht anaphylaktisch reagierten, so scheinen mir im Hinblick auf meine mit Kolostrum gewonnenen Versuchsergebnisse in erster Linie wohl die quantitativen Verhältnisse der Milcheiweißkörper für den differenten Ausfall der gleichartigen Versuche verantwortlich gemacht werden zu müssen, denn daß die von Besredka und mir erhobenen Befunde nicht in prinzipiellen Gegensatz zu den von Uhlenhuth und Haendel gewonnenen Versuchsergebnissen gestellt werden können, scheint mir über jeden Zweifel erhaben. Nach den ausgedehnten Untersuchungen von I. Bauer, Engel, Bauereisen u. a. kann es heute ja wohl als sicher gelten, daß Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes gemeinsame Eiweißkörper besitzen, welche die genannten Flüssigkeiten, um Hamburgers Worte zu gebrauchen, „als der Gattung Rind angehörig charakterisieren“, und welche nach den letzten Angaben von Bauer und Engel in den Globulinen und Albuminen der genannten Flüssigkeiten zu suchen sein dürften. Bekanntlich unterliegt aber gerade der Gehalt an Globulinen und Albuminen in den verschiedenen Milchsorten ganz erheblichen Schwankungen, und ein Blick auf die von Sassenhagen festgestellten Werte über den Eiweißgehalt der verschiedenen Milcharten, wie sie Bauer in seiner letzten Arbeit in einer Tabelle sehr demonstrativ

zusammengestellt hat, läßt uns auch die Tatsache verständlicher erscheinen, warum die Versuchstiere bei einer Vorbehandlung mit Rinder Serum nicht auf eine Reinjektion mit Kuhmilch, wohl aber auf eine Nachimpfung mit Kolostrum anaphylaktisch reagierten. Der Gehalt an Albumin- und Globulinbestandteilen ist bei den verschiedenen Milchsorten in der Regel so gering, daß die Erklärung, der geringe Gehalt an gemeinsamen Eiweißkörpern (Albumine und Globuline) in der zur Reinjektion verwendeten Milch müsse als der wesentliche Faktor für den Ausfall der Versuche von Besredka und mir angesehen werden, nichts Gezwungenes an sich haben kann. Wenn Uhlenhuth und Haendel in ihren Versuchen auch bei Reinjektionen von gewöhnlicher Milch einen anaphylaktischen Shock bei Meerschweinchen auszulösen vermochten, welche mit Rinder Serum sensibilisiert waren, so scheint mir der Schluß nicht ungerechtfertigt, daß die genannten Autoren zur Reinjektion eine Milch verwendet haben, welche sich in ihrer Zusammensetzung dem Typus des Kolostrums genähert, d. h. eine erhebliche Zunahme der Molkeneiweißkörper (Albumine und Globuline) erfahren hatte. Daß es sich nur um quantitative Verhältnisse handeln kann, geht auch aus der entgegengesetzten Versuchsanordnung hervor, wonach die mit Milch sensibilisierten Meerschweinchen auf eine Reinjektion mit Rinder Serum ja in gleicher Weise anaphylaktisch reagieren, wie auf eine solche des homologen Antigens, eine Tatsache, die im Hinblick auf die zur Sensibilisierung und zur Reinjektion verwendeten durchaus gleichen Mengen einer an sich gleichartigen Milch mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß die in der gewöhnlichen Milch enthaltenen Molkeneiweißkörper nach ihren quantitativen Eigenschaften in der Regel wohl ausreichen, um eine Sensibilisierung des Versuchstieres herbeizuführen, ohne aber stets gleichzeitig für die Ausbildung einer ausreichenden Giftmenge zu genügen. Daß andererseits die Reaktionsfähigkeit des Kolostrums gegenüber dem Blutserum der gleichen Tierart sich als vollkommen unabhängig davon erweist, ob das Kolostrum zur Sensibilisierung oder zur Reinjektion verwendet wird, liegt meines Erachtens gerade in dem hohen Gehalt an Molkeneiweißkörpern begründet, indem die im Kolostrum enthaltenen Albumine und

Globuline nicht nur zur Sensibilisierung des Versuchstieres, sondern auch zur Abspaltung einer für den anaphylaktischen Shock ausreichenden Giftmenge genügen.

Uhlenhuth und Haendel haben seinerzeit die Frage angeschnitten, ob die von ihnen erhaltenen Ergebnisse, mit denen unsere eigenen Beobachtungen sich in vieler Hinsicht decken, auf ein einfaches Uebergreifen der Reaktion zurückzuführen sind, oder ob Serum- und Milcheiweißanaphylaxie nebeneinander bestehen, ohne daß es den genannten Autoren jedoch möglich war, eine völlige Klarheit über diese Frage zu erzielen. Ich kann indessen auf Grund meiner eigenen Versuchsprotokolle ebensowenig eine vollkommene Erklärung für die von den genannten Autoren angeschnittene Frage geben, da auch meine Versuche, wenn sie auch in der Hauptsache für ein Uebergreifen der Reaktion sprechen, teilweise die Annahme rechtfertigen, daß eine Milch- und Serumeiweißanaphylaxie nebeneinander bestehen. Was die von Uhlenhuth und Haendel gezogenen praktischen Beschlüsse anlangt, so kann ich mich den Ausführungen der genannten Autoren, „daß eine absolut sichere Differenzierung von Serum und frischem Milcheiweiß mit Hilfe der Anaphylaxie in unzweifelhafter Weise nicht möglich ist, durchaus anschließen, wenn sich auch quantitative Differenzen bemerkbar machen, die allerdings unter Umständen bei entsprechender Versuchsanordnung so stark sind, daß sie quantitative Unterschiede vorzutäuschen in der Lage sind.

Zum Schluß möchte ich noch kurz auf einige Versuchsergebnisse hinweisen, welche ich im Rahmen meiner Studien über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Milch, Kolostrum und Rinderserum gewonnen habe.

Pfaundler und Moro hatten bekanntlich den Nachweis erbringen können, daß in der frischen Kuhmilch hämolytisches Komplement enthalten sei, mit dessen Hilfe sie inaktiviertes Rinderserum zur Hämolyse gegen Meerschweinchenblutkörperchen zu aktivieren vermochten. Bei Durchsicht der Versuchsprotokolle muß es indessen sofort auffallen, daß es den genannten Autoren nur bei Verwendung verhältnismäßig großer Dosen von Milch gelungen war, eine Komplettierung

der Ambozeptoren des Rinderserums zu erzielen, so daß der Gehalt der von den Autoren untersuchten Milch an hämolytischem Komplement ein immerhin spärlicher gewesen sein muß. In der Tat konnten auch die genannten Autoren bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung einen Komplementgehalt der Milch nicht feststellen, eine Tatsache, die später in den Versuchen von I. Bauer eine weitere Bestätigung fand. Gelegentlich dieser eben erwähnten Versuche konnte Bauer aber zeigen, daß die Milch mastitiskranker Kühe ebenso wie das Kolostrum reichlich Serumbestandteile und unter anderem auch hämolytisches Komplement in größerer Menge enthält. Auf diese Erfahrung fußend hat dann der genannte Autor eine Methode zum Nachweis von Serumbestandteilen und speziell von hämolytischen Komplementen in der Milch aufgebaut und sie zum Zweck der Diagnose der Mastitis in Anwendung gebracht. Für die Ausführung dieser Methode, mit welcher Bauer angeblich gute Resultate erzielt hat, benötigt man folgende Komponenten:

- 1) eine 5-proz. Aufschwemmung von Meerschweinchenblutkörperchen,
- 2) die zur Untersuchung bestimmte Milch,
- 3) inaktives Rinderserum.

Je 1 ccm der Blutkörperchenaufschwemmung wird mit der einfachen minimal lösenden Dosis des Rinderserums versetzt, worauf die zur Prüfung bestimmte Milch in fallenden Mengen hinzugefügt und die Gesamtmenge der einzelnen Röhrchen durch Zusatz von Kochsalzlösung auf 3 ccm ergänzt wird. Nachdem die Röhrchen gut durchgeschüttelt sind, werden sie 2 Stunden bei 37° gehalten. Zentrifugiert man nach dieser Zeit die Röhrchen, so hat die Flüssigkeit dort, wo eine Hämolyse eingetreten ist, je nach deren Stärke eine mehr oder weniger ausgeprägte ziegelrote Farbe erhalten, während beim Ausbleiben der Hämolyse die milchweiße Flüssigkeit über den Blutkörperchen steht. Ich habe diese von Bauer angegebene Methode unter Wahrung der von ihm angegebenen Technik auch für meine Versuche verwendet und möchte hier die Resultate einiger Versuche, die ich mit der genannten Methode angestellt habe, tabellarisch folgen lassen.

Tabelle.

Menge des Antigens	Kolostrum 1 vom 13. III.	Kolostrum 2 vom 13. III.	Kolostrum 3 vom 16. III.	Kuhmilch
1,0	kompl. Hämol.	kompl. Hämol.	kompl. Hämol.	Spur Hämol.
0,8	"	"	f. kompl. Hämol.	keine Hämol.
0,6	f. kompl. Hämol.	Spur Hämol.	Spur Hämol.	" "
0,5	Spur Hämol.	keine Hämol.	keine Hämol.	" "
0,4	keine Hämol.	—	—	" "
0,3	" "	—	—	" "

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich in Uebereinstimmung mit den Angaben von Bauer, daß in der Tat dem Kolostrum ein höherer Gehalt an hämolytischem Komplement eigen ist als der frischen Kuhmilch, und daß der Gehalt an hämolytischem Komplement im Kolostrum mit zunehmender Entfernung vom Tag der Geburt eine merkliche Abnahme zeigt. Leider ist es mir aus Mangel an Material nicht möglich gewesen, systematische Untersuchungen darüber anzustellen, innerhalb welcher Zeit der Gehalt des hämolytischen Komplementes im Kolostrum bis zu dem Grade sinkt, wie wir ihn in der gewöhnlichen Kuhmilch nachweisen können. Auch in der Kuhmilch fehlt nämlich, was ich in Uebereinstimmung mit Pfaundler und Moro feststellen konnte, das hämolytische Komplement keineswegs vollkommen. Es sind bei der Milch allerdings wesentlich größere Mengen erforderlich als beim Kolostrum, um bei gleichen Ambozeptormengen eine vollkommene Auflösung der Blutkörperchen herbeizuführen. Doch ist es mir in mehreren Fällen gelungen, bei Verwendung von 2 ccm Milch eine komplette Hämolysen der Blutkörperchen herbeizuführen, während in anderen Fällen selbst bei Verwendung der doppelten Menge nur eine partielle Hämolysen zu erzielen war. Es bestehen also auch hier zwischen Milch, Kolostrum und Rinderserum keineswegs absolut prinzipielle, sondern lediglich quantitative Differenzen, welche von der Eigenart der jeweils verwendeten Milchsorten abhängig sind und ihren Grund höchstwahrscheinlich ebenfalls in dem prozentualen Gehalt der genannten Flüssigkeiten an Albuminen und Globulinen haben.

Zusammenfassung.

1) Eine absolute Differenzierung zwischen Milch, Kolostrum und Blutserum des Rindes ist in unzweifelhafter Weise weder mit Präzipitations- und Komplementbindungsmethode noch mit der Anaphylaxie möglich.

2) Zwischen den genannten Flüssigkeiten bestehen quantitative biologische Differenzen, welche durch die quantitativen Verhältnisse der in diesen drei Flüssigkeiten enthaltenen gemeinsamen Eiweißkörper ihren Grund haben.

3) Das individuelle Verhalten der mit diesen Flüssigkeiten gewonnenen Immunsera, sowie die jeweils gewählte Versuchsanordnung können von Einfluß auf den Ausfall der Reaktion sein.

4) Ein mit Kuhmilch gewonnenes Antiserum ermöglicht unter Umständen eine vollkommene Differenzierung gegenüber dem Rinderserum, während ein mit Rinderserum gewonnenes Immunserum eine deutliche, wenn auch geringere Verwandtschaft zwischen diesen Flüssigkeiten zum Ausdruck zu bringen vermag als zwischen Kolostrum und Rinderserum.

5) Das Kolostrum nimmt in biologischer Beziehung eine Mittelstellung zwischen Milch und Rinderserum ein, indem die mit Kolostrum gewonnenen Immunsera in der Regel eine annähernd gleiche Avidität gegenüber Milch und Rinderserum zeigen wie gegen das Antigen der Vorbehandlung.

6) Vereinzelte Kolostrumantisera zeigen jedoch ein annähernd gleiches Verhalten wie die mit Kuhmilch gewonnenen Immunsera, indem sie, wenigstens im Komplementbindungsversuch, eine Differenzierung zwischen Kolostrum und Rinderserum ermöglichen.

7) Im Präzipitationsversuch zeigen derartige Kolostrumimmunsera entsprechend den Angaben von Bauer ein nicht sehr ausgesprochenes aber immerhin unverkennbares Uebergreifen der Reaktion.

8) Das Kolostrum zeigt durchweg eine größere biologische Verwandtschaft zum Rinderserum als die Milch, eine Erscheinung, die auf dem stärkeren Gehalt des Kolostrums an den beiden Flüssigkeiten gemeinsamen Eiweißkörpern zurückzuführen sein dürfte. Als die gemeinsamen Eiweißkörper

hätten nach den neueren Untersuchungen von Bauer und Engel die Molkenproteine (Albumin und Globulin) zu gelten.

9) Auch im Anaphylaxieversuch kommt der höhere quantitative Gehalt des Kolostrum an Albuminens und Globulinen dadurch zum Ausdruck, daß die Versuchstiere, die mit Rinderserum sensibilisiert sind, in gleicher Weise auf Kolostrum anaphylaktisch reagieren, wie die mit Kolostrum sensibilisierten auf eine Reinjektion mit Rinderserum.

10) Mit Kuhmilch gelingt es zwar, gegen Rinderserum zu sensibilisieren, umgekehrt aber nicht mit Rinderserum gegen alle Kuhmilcharten, da im letzteren Falle die in der Milch enthaltenen, den Eiweißkörpern des Serums verwandten bzw. identischen Eiweißkörper (Globuline, Albumine) wohl zur Sensibilisierung, aber nicht in allen Fällen zur Abspaltung einer genügenden Giftmenge ausreichen.

11) Der Gehalt des Kolostrums an hämolytischem Komplement ist größer als der der gewöhnlichen Milch und nimmt allmählich um so mehr ab, als der Tag der Entnahme vom Termin des Wurfes entfernt ist. Auch die Milch enthält hämolytisches Komplement, wenn auch in geringeren Mengen.

Literatur.

- Bauer, I., Deutsche med. Wochenschr., 1909.
 — Verh. deutscher Naturforscher und Aerzte, 1909.
 — Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie zu Frankfurt a. M.
 — Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 18.
 — Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie zu Frankfurt a. M., Heft 3.
 — Zeitschr. f. exp. Pathologie und Therapie, Bd. 7, 1909, Heft 2.
 — und Sassenhagen, Med. Klinik, 1909, No. 51.
 — und Engel, St., Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, Heft 1 u. 2.
 Engel, Biochem. Zeitschr., 1908, p. 237.
 Bauereisen, H., Habilit.-Schrift, 1910, Arch. f. Gyn., Bd. 90.
 Hamburger, Wien. klin. Wochenschr., 1901.
 Meyer und Aschoff, Berl. klin. Wochenschr., 1907.
 Rickmann, W., Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie zu Frankfurt a. M., Heft 3.
 Schloßmann und Moro, Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 14.
 Uhlenhuth, Festschr. f. Robert Koch, 1903.
 Uhlenhuth und Haendel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Breslau (Direktor:
Prof. Dr. R. Stern, †).]

Ueber das Vorkommen von „Antituberkulin“ im menschlichen Blutserum.

Nach gemeinsam mit **W. Frei**¹⁾ vorgenommenen Untersuchungen.

Von **Dr. J. H. Schultz.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1911.)

Die neueren Angaben über das Vorkommen von „Antituberkulin“ bei Phthisikern lauten ziemlich übereinstimmend dahin, daß es im Anfangsstadium selten oder nie, in fortgeschritteneren Fällen häufiger nachweisbar ist. Dagegen besteht über sein Auftreten bei klinisch Gesunden oder an nicht-spezifischen Affektionen Erkrankten keine Einigkeit, indem einige Autoren (Calmette, Lüdke, Citron, C. und S. v. Ruck, Michaelis und Eisner) hier nie, andere (v. Szabory, Wolff-Eisner) ziemlich häufig positive Resultate hatten. Da für das Verständnis der Häufigkeit positiver Haut- und Ophthamoreaktionen bei klinisch Gesunden oder anderweitig Erkrankten das Vorhandensein von Antikörpern gegen Tuberkulin im Blutserum von Bedeutung wäre, schien es uns nicht überflüssig, ein etwas größeres Material einer Untersuchung in dieser Richtung zu unterziehen, über deren Resultate ich hier kurz berichten möchte. Sie sollten ursprünglich den Ausgangspunkt einer längeren klinischen Beobachtung mit fortlaufender Bestimmung des Antituberkulin-gehaltes im Blutserum bilden, doch wurden diese späteren Beobachtungen aus äußeren Gründen abgebrochen, so daß ich

1) Nähere klinische Daten und theoretische Ausführungen wird Herr Frei in seiner Dissertation bringen, speziell über die Rolle einer unspezifischen Antikörpersteigerung usw.

mich darauf beschränke, hier kurz die Ergebnisse der Voruntersuchung wiederzugeben, die mir auch an und für sich nicht ohne Interesse scheinen. Sera von Patienten, die sich in Tuberkulinbehandlung befanden, wurden ausgeschlossen.

Es liegen mir Untersuchungen von 287 Sera gegen Alttuberkulin, von 176 gegen Kochsche Bacillenemulsion vor. Die Prüfung auf Antikörpergehalt geschah mittels der Komplementbindungsreaktion.

Die Versuchsanordnung war die folgende.

0,005, 0,003 und 0,002 Alttuberkulin oder Bacillenemulsion wurden im Volum 0,25 mit 0,02 inaktivem (55°) Patientenserum im Volum 0,2 und wechselnden, im Vorversuch festgestellten (0,04—0,002) Mengen aktivem Meerschweinchenserum im Volum 0,2 (Gesamt volum 0,65) gut durchmischt für eine Stunde bei 37° belassen. Dann wurden 0,5 ccm einer 2,5-proz. sensibilisierten Hammelblutlösung zugefügt und der Ablauf der Hämolyse zeitlich beobachtet. Außer den hämolytischen Kontrollen wurden Antigen und Antikörper in doppelter und höchster Versuchsmenge angesetzt.

Nach dem Ausfall des Versuches unterschieden wir:

- 1) Negative (—), die vor oder gleichzeitig mit der hämolytischen Kontrolle gelöst waren.
- 2) Schwach positive (+), die bei einer Lösungsverzögerung von mindestens 15 Minuten eine „starke“ bis „mäßige“ Hämolyse in 1—2 Röhrchen zeigten.
- 3) Positive (++), wo in mindestens 2 Röhrchen eine Hämolyse von „Spürchen“ bis „wenig“ auftrat.
- 4) Stark positive (+++), die komplette Hemmung zeigten.

Danach ergab sich:

Uebersicht der Reaktionen.

	+++	++	+	—	Summa
Geg. Tuberk.	6,6 Proz. (19)	14,6 Proz. (42)	37,6 Proz. (108)	41,2 Proz. (118)	287
„ Emuls.	2,8 Proz. (5)	8,5 Proz. (15)	29,5 Proz. (52)	59,2 Proz. (104)	176

Stark positive Reaktionen sind bekanntlich selten, bei unserer Versuchsanordnung mit Bacillenemulsion sogar sehr selten (2,8 Proz.), da wir diese in sehr starker Verdünnung anwandten.

Einen näheren Ueberblick über die Verteilung der positiven und negativen Resultate gibt die folgende Tabelle.

1. Tuberkulose (klinisch).

Lungentuberkulose	+++		++		+		—		Summa	
	Tbk.	Em.	ATk.	BE.	ATk.	BE.	ATk.	Em.	ATk.	Em.
m. sonst. Tbk.										
Stadium I a) kompliziert	1	1	1	—	2	—	9	12	31	2
b) nicht kompl.	3	1	5	—	10	—				
Stadium II	7	2	4	6	6	3	8	4	25	15
Stadium III	1	—	—	1	3	6	2	1	6	8
Pleuritis lymphoc. (ohne Lungenbefund)	2	—	—	—	1	—	—	—	3	—
Chirurgische Tuberkul.	1	1	4	1	—	1	1	3	6	6
Bronchialdrüsen, Miliartuberk., Lymphomat., Tbk. „Scrophulosis“	—	—	—	—	6	3	—	—	6	3
	15	5	14	8	28	13	20	20	77	34

2. Suspekt (klinisch).

	+++		++		+		—		Summa	
	ATk.	Em.	ATk.	Em.	ATk.	Em.	ATk.	Em.	ATk.	Em.
„Suspekt“	1	—	5	3	20	—	22	24	48	27
	16	5	19	11	48	13	42	44	125	61

3. Klinisch frei von Tuberkulose.

Infektionskrankh., Tumoren, Gesunde usw.	}	3	—	23	4	60	39	76	60	162	115

Bei den 19 Fällen, die gegen Alttuberkulin als Antigen stark positiv reagierten, handelte es sich 12mal um klinisch sichere Tuberkulose (Tuberculosis pulmonum I—III, Otitis media tuberculosa), 4 waren klinisch sehr verdächtig (2 Fälle von Pleuritis mit lymphocytärem Exsudat, positiver Ophthalmoreaktion, unsicherem Lungenspitzenbefund; 1 Fall von Pleuritis sicca mit stark reduziertem Hämoglobingehalt, 38°; 1 Fall mit chronischer Bronchitis und einer Schallverkürzung über der linken Lungenspitze, außerdem Carcinoma ventriculi); in drei Fällen ließ sich klinisch keinerlei erklärender Befund erheben (septisches Fieber bei peritonsillarem Abszeß, Epilepsie, Enteritis acuta [mit Gewichtszunahme völlig geheilt]).

Die Fälle, die mit der von uns gewählten Verdünnung der Bacillenemulsion stark positiv reagierten, waren sämtlich klinisch sicher tuberkulös erkrankt.

Unter den 42 positiven Reaktionen gegen Alttuberkulin fanden sich 14 sicher tuberkulöse, 5 verdächtige. Unter 15 gegen Emulsion stark positiven befanden sich 8 sicher tuberkulöse, 3 verdächtige.

Schwach positive Reaktionen sind bei der beschriebenen Versuchsanordnung bei beiden Präparaten häufig bei klinisch Tuberkulösen und Nichttuberkulösen.

Die Untersuchung von 20 Exsudaten ergab keinerlei bemerkenswerte Resultate; der Liquor einer tuberkulösen Meningitis reagierte negativ.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend können wir sagen: Der Nachweis geringer Antikörpermengen gegen Tuberkulin und Bacillenemulsion gelingt im Blutserum häufig, ohne daß daraus diagnostische Schlüsse gezogen werden dürfen. Auch starke Reaktionen (++ und +++) finden sich bei Kranken, deren Untersuchung keinerlei Anhaltspunkte gibt, besonders bei der Verwendung von Alttuberkulin als Antigen. Bei Verwendung von Bacillenemulsion als Antigen scheinen die stark positiven (++) Reaktionen nur bei tuberkulösen Affektionen vorzukommen.

Diese zum Teil von sonstigen Beobachtungen etwas abweichenden Resultate erklären sich außer durch technische Verschiedenheiten durch die Auswahl des Krankenmaterials, indem bei der vorliegenden Untersuchung besonders auf die Heranziehung klinisch nicht Tuberkulöser Wert gelegt wurde.

Literatur.

- Bauer, Arch. f. Kinderheilk., 1908. — Verhandl. d. Ges. f. Kinderheilk., Köln 1908. — Kongreß f. Innere Medizin, 1910. — Berl. klin. Wochenschrift, 1910. — Wiener med. Wochenschr., 1910.
 Berenbach, Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 12, 1908, Heft 3.
 Bruck, C., Deutsche med. Wochenschr., 1906.
 Calmette, Massol et Breton, Compt. rend. Soc. Biol., 1908.
 — Berl. klin. Wochenschr., 1908.
 Christian und Rosenblad, Münch. med. Wochenschr., 1908.
 Citron, Berl. klin. Wochenschr., 1907. — Immuntherapie und Immun-diagnostik, 1910. — Kongreß für Innere Medizin, 1910.
 Cohn, Berl. klin. Wochenschr., 1908.

- Czastka, Wiener klin. Wochenschr., 1908.
Enzel und Bauer, Münch. med. Wochenschr., 1908. — Verhandl. d. Ges. f. Kinderheilk., 1908. — Arch. f. Kinderheilk., 1908.
Gengou, Berl. klin. Wochenschr., 1906.
Löwenstein, Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 15, 1910, Heft 4 u. 5.
Lüdke, Beitr. z. Klinik d. Tuberk., Bd. 7, 1908. — Münch. med. Wochenschrift, 1908.
Meyer, Deutsche med. Wochenschr., 1908.
Michaelis und Eisner, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Orig., Bd. 6, 1910, Heft 4.
Morgenroth und Rabinowitsch, Deutsche med. Wochenschr., 1907.
Rolly, Münch. med. Wochenschr., 1909.
K. und S. v. Ruck, Zeitschr. f. Tuberk., 1910.
Ruppel, Med. Klinik, 1910.
Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 5, 1910, Heft 5.
v. Szabory, Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 14, 1909.
Wassermann und Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1906. — Münch. med. Wochenschr., 1906.
Weil und Nakajama, Münch. med. Wochenschr., 1906.
— und Strauss, Wiener klin. Wochenschr., 1908.
Wolff-Eisner, Berl. klin. Wochenschr., 1908. — Wiener klin. Wochenschrift, 1908. — Handb. d. Serumther., 1910.
— und Asher, Wiener klin. Wochenschr., 1908.
Wolff und Mühsam, Deutsche med. Wochenschr., 1908.

Bemerkung zu der Arbeit „Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden“.

Von Oberstabsarzt Dr. Ph. Kuhn.

In der Arbeit „Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden“ in Bd. 8, Heft 5/6 dieser Zeitschrift haben wir auf p. 671 folgende Worte gebraucht:

„Reinecke hat sich nun kürzlich auf dem Kolonialkongreß in Berlin in einem Vortrag über den jetzigen Stand unserer Kenntnis von der Pferdesterbe rundweg dahin ausgesprochen, daß die Pferdesterbe nicht auf Hunde übertragbar sei. Er stützte sich dabei auf Mac Fadyeans und seine eigenen Versuche und erklärte die Infektiosität des Hundeblasses in Theilers und seinen Fällen für Pferde durch das bloße Kreisen des Virus im Hundekörper.“

48*

Diese Darstellung ging zurück auf das, was ich aus dem Munde des Herrn Reinecke während seines Vortrages auf dem Kolonialkongreß und während einer Unterredung nachher gehört hatte.

Herr Reinecke machte mich nun nach Erscheinen des Kongreßwerkes auf den Wortlaut seines Vortrages aufmerksam, wie er in den „Verhandlungen des Kolonialkongresses 1910“ p. 375 niedergelegt ist. Nach diesem Wortlaute hat Herr Reinecke sich nicht rundweg gegen die Empfänglichkeit des Hundes ausgesprochen, sondern folgendes gesagt:

„Auf Hunde läßt sich das Virus, wie Edington, Theiler und ich nachgewiesen haben, erfolgreich übertragen, denn nach Rückimpfung des Blutes der infizierten Hunde auf Pferde akquirierten letztere Pferdesterbe.

Ob allerdings eine Multiplikation des Virus im Hundekörper wirklich eintritt, ist mit Sicherheit noch nicht ermittelt worden, da in allen Fällen, wie besonders durch Mac Fadyeans Nachprüfungen erwiesen ist, mit verhältnismäßig zu großen Virusmengen experimentiert wurde.“

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. IX. No. 6.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium des Rockefeller Institute for Medical Research, New York.]

Die quantitative Seite der Serodiagnostik der Syphilis, mit Bemerkungen über den Globulin- und natürlichen Antihammel-Ambozeptorgehalt syphilitischer Sera, sowie über die angebliche Gefahr von Auftreten des Neisser-Sachsschen Phänomens beim Verwenden des antimenschlichen Ambozeptors.

Von Prof. Dr. **Hideyo Noguchi.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. März 1911.)

Es dürfte wohl an der Zeit sein, Studien über die Möglichkeit quantitativer Verwertung der Wassermannschen Reaktion zu machen, und vielleicht kann man durch eingehende Untersuchungen nach dieser Richtung hin klarere Vorstellungen über dieses interessante Phänomen gewinnen. Bislang waren die Bemühungen der meisten Forscher auf diesem Gebiete darauf gerichtet, den diagnostischen Wert der Wassermannschen Reaktion festzulegen. Dies ist weitaus zur Genüge geschehen, aber die Zeit ist gekommen, noch einen Schritt weiter zu gehen, nämlich die Wassermannsche Reaktion in ihrer Bedeutung für quantitative Bestimmungen zu studieren. Unser nächster Schritt muß jetzt sein, die Beziehungen zwischen Intensität der Reaktion und klinischen Bedingungen im Verlauf der therapeutischen Maßnahmen zu bestimmen. Für den Arzt wird es sicherlich eine wertvolle Hilfe sein, wenn er in der Lage ist, den Einfluß seiner Therapie auf einen gegebenen Fall durch quantitative Bestimmungen innerhalb der Reaktionsbreite festzulegen. Bis jetzt haben viele Forscher, besonders Citron, Boas, Lesser, Blaschko, Pederson u. a. die Reaktion während der Behandlungsdauer ohne Anwendung genauerer quantitativer Methoden festzustellen gesucht. Sie richteten ihr Augenmerk darauf, ob die Reaktion ganz verschwunden bzw. vermindert war, oder aber unverändert blieb.

Analog jedoch anderen Phänomenen im Gebiete der Immunitätslehre läßt sich die Reaktion der Komplementbindung ebensowohl im quantitativen Sinn verwerten. Könnte man nicht einen höheren Grad der Exaktheit erreichen, wenn wir beispielsweise die Intensität der Reaktion in Einheiten ausdrücken, indem wir etwa die Quantität des Bindungskörpers, welche in einer festgelegten Standardmenge eines unter Prüfung befindlichen positiven Serums enthalten ist, zahlenmäßig festlegen? In der Wassermannschen Reaktion jedoch haben wir eine solche quantitative Methode noch nicht.

Die Methode von Citron besteht darin, die Stärke der Reaktion in 5 Grade einzuteilen, entsprechend dem Betrage der Hämolysehemmung, die durch Reaktion von 0,2 ccm des Patientenserums mit 0,2 ccm des Antigens und auch durch die Reaktion von 0,1 ccm des ersteren mit 0,1 ccm des letzteren eintritt. Auf diese Art kann man zwar die Stärke der Komplementbindung einer beträchtlichen Anzahl von Serumproben zur Anschauung bringen, aber die in diesem Schema zum Ausdruck der stärksten Reaktion vorgesehene quantitative Basis reicht eben nicht mehr aus, um den wahrhaften Titer gewisser noch stärker reagierender Sera, die eventuell schon in Mengen von 0,01, 0,005, ja selbst in so minimalen Mengen wie 0,0006 ccm in Gegenwart einer Antigendose noch völlige Hemmung oder Hämolyse zeigen, auszudrücken. Aus dieser Tatsache erhellt zur Genüge, daß Citron nicht beabsichtigt haben kann, seine Methode für exaktes analytisches Arbeiten zu verwerten. Browning und M'Kenzie schlugen eine Methode vor, mittels welcher sie den Betrag reagierender Substanz syphilitischen Serums durch denjenigen Betrag von Komplement ausdrückten, der, bei Gegenwart einer bestimmten Menge von Antigen und mit einer gegebenen Quantität des Versuchsserums reagierend, bis zur völligen Erschöpfung fixiert wurde. Bei solchem Vorgehen wird man zwar einen wirklich brauchbaren Indikator für die Menge reagierender Substanz so lange haben, als man mit einem bekannten bestimmten Betrag des hämolytischen Ambozeptors arbeitet, ist dies aber nicht der Fall, sind die verwendeten Ambozeptormengen variabel, dann erhält man mit dieser Methode auch ganz verschiedene und nicht quantitativ vergleichbare Resultate, weil sich eben die Aktivität von Komplement ganz verschieden verhält, entsprechend der bei einer jeweiligen Experimentanordnung vorhandenen Ambozeptormenge. Zeissler hat ferner eine Methode angegeben, welche von der oben erwähnten nicht wesentlich abweicht außer darin, daß er sowohl aktive als inaktivierte Sera verwendet. Zeissler teilt die Intensität der Reaktion in 5 Grade, je nach dem Betrage der Hemmung, der durch wechselnde Mengen des Serums in Verbindung mit wechselnden Beträgen des Antigens entsteht. Der stärkste (fünfte) Grad der Komplementablenkung wird nach seinem Schema erreicht, wenn 4 Komplementeinheiten durch 0,1 ccm inaktivierten Serums in Gegenwart einer halben Antigendose fixiert werden, während der

schwächste (erste) Grad so bemessen ist, daß erschöpfende Bindung einer Komplementeinheit durch 0,2 ccm inaktivierten Serums in Gegenwart zweier vollen Antigendosen eintritt. Die Verwendung verschieden abgemessener Mengen von Komplement, Antigen und syphilitischem Serum ist mithin das leitende Prinzip der von Zeissler angegebenen Methode.

Von etwas verschiedener Art ist ein Weg, den ich im Jahre 1908 zur Bestimmung des Titers der komplementbindenden Substanz im Serum von Syphilitikern eingeschlagen habe, und zwar teilweise unter Zugrundelegung der Wassermannschen, später (seit 1909) auch meiner Methode. Zwecks quantitativer Bestimmung der reagierenden Substanz syphilitischen Serums verfuhr ich folgendermaßen. Ich bestimmte diejenige geringste Menge von Serum, die entweder völlige Hämolysehemmung oder einen gegebenen Grad derselben bei Konstanz der anderen Faktoren (Komplement, Ambozeptor, Antigen, Erythrocytensuspension) bewirkte, anders ausgedrückt: diejenige geringste Menge des betreffenden Serums, welche imstande ist, 2 Einheiten von Komplement in der Gegenwart eines ausreichenden Betrages von Antigen, zweier Einheiten von hämolytischem Ambozeptor und einer konstanten Menge von Erythrocytensuspension, zu binden¹⁾. Um den Ausdruck „ausreichender Betrag von Antigen“ zu erläutern, will ich erwähnen, daß ein genau nach meiner Methode dargestelltes Antigen, ohne irgendwelche unerwünschte Nebenwirkungen, wie Auftreten antikomplementärer oder hämolytischer Eigenschaften oder „nicht spezifische Hemmung“ befürchten zu müssen, selbst im mehrfachen Multiplum der absolut nötigen Minimalmenge unbedenklich verwendet werden kann, und daß bei solchem Gebrauch des Antigens (Vervielfachen der Minimaldosis) selbst die schwächste Reaktion selten der Entdeckung entgehen kann, aber andererseits Ueberempfindlichkeit des Reaktionsausschlages durchaus nicht zu fürchten ist. Indem ich mir vorbehalte, die experimentellen Daten der Analyse von 80 verschiedenen Extrakten anderweit zu bringen, will ich an diesem Ort nur kurz erwähnen, woraus ein alkoholischer Leberextrakt besteht mit spezieller Bezugnahme natürlich auf seine Eigen-

1) Wie aus seinem schönen Buch „Die Wassermannsche Reaktion“ (Berlin 1911) ersichtlich, hat Boas auch dasselbe Prinzip für die Reaktionskörper benützt.

schaften als Antigen, seine antikomplementären oder hämolytischen Nebenwirkungen und seine eventuelle Eigenschaft, nicht-spezifische Komplementablenkung zu bewirken.

Tabelle I.

Alkoholisch. Leberextrakt (gewonnen durch Digerieren von Lebersubstanz mit Alkohol bei 37° C)	ätherunlöslich. Anteil	in heißem Alkohol lösliche Fraktion	{	acetun-	antigene	Eigenschaften	sehr kräftig
				unlösliche	antikomplementäre	"	gering od. keine
				Fraktion	hämolytische	"	keine
					nicht-spezifische Hemmung	"	keine
	ätherlöslich. Anteil	in heißem Alkohol lösliche Fraktion	{	acetun-	antigene	Eigenschaften	gering
				lösliche	antikomplementäre	"	deutlich
				Fraktion	hämolytische	"	deutlich
					nicht-spezifische Hemmung	"	keine
	ätherunlöslich. Anteil	in heißem Alkohol unlösliche Fraktion	{	in heißem	antigene	Eigenschaften	keine
				Alkohol	antikomplementäre	"	deutlich
				lösliche	hämolytische	"	sehr kräftig
					nicht-spezifische Hemmung	"	keine
	ätherunlöslich. Anteil	in heißem Alkohol unlösliche Fraktion	{	in heißem	antigene	Eigenschaften	keine
				Alkohol	antikomplementäre	"	gering
				unlösliche	hämolytische	"	keine
					nicht-spezifische Hemmung	"	deutlich

In obenstehender Tabelle sind verschiedene Fraktionen von alkoholischem Leberextrakt aufgeführt. Ich verwende als Antigen ausschließlich den acetunlöslichen Anteil der Gewebslipide, aber schon dann, wenn man nur die ätherlösliche Fraktion des Gewebsextraktes aussondert, wird man keine Gefahr laufen, auch beim Verwenden von Menschensera eine nicht-spezifische Komplementfixierung zu erhalten. Während man alkoholischen Extrakt keineswegs in einem Vielfachen einer gewissen Minimaldosis verwenden kann — eben wegen der ihm in solch großer Dosierung eigentümlichen antikomplementären oder hämolytischen Wirkungen —, ist dies bei der ausschließlichen Verwendung der acetunlöslichen Fraktion des Extraktes durchaus nicht der Fall, vielmehr kann man dies Präparat ruhig in 10-, ja 20-facher Dosis des zur Reaktion absolut notwendigen Minimalquantums verwenden. Am vorteilhaftesten ist es nach meinen Erfahrungen, etwa die 4- bis 5-fache Dosis zu verwenden. Ein recht kräftig reagierendes syphilitisches Serum kann man zwar schon durch eine Dose des Antigens erkennen, um aber ganz schwache Reaktionen festzustellen, fügt man besser noch 3 Dosen dazu. Eine weitere

Steigerung der Antigenmenge hat dann aber nicht mehr die Wirkung, die Reaktion zu verschärfen: bis zu oder eben über vier Dosen mag man demnach als genügendes und in der Wirkung konstantes Quantum bezeichnen ¹⁾).

Weiterhin möchte ich noch auf gewisse Punkte hinweisen, die mir beim Ausarbeiten einer quantitativen Methode wesentlich erschienen. Die Forderung, mit einem genau bekannten Quantum Komplement zu arbeiten, bedarf keiner weiteren Begründung, es ist aber von einigen Forschern übersehen worden, weshalb auch die Quantität des zur Verwendung kommenden hämolysischen Ambozeptors bestimmt und bekannt sein muß. Beiden Forderungen muß meines Erachtens nach unbedingt Genüge geleistet werden; denn wenn man die Menge eines der beiden Faktoren (Komplement resp. Ambozeptor) nicht genau kennt, wird auch eine genaue Kenntnis der Quantität des anderen bedeutungslos. Es hängt nämlich die Aktivität einer gegebenen Menge von Komplement durchaus von dem Betrage des Ambozeptors ab, und zwar, wie sich experimentell belegen ließ, in ganz bestimmtem Verhältnis. Die klassischen Versuche von Morgenroth und Sachs, welche sich auf die Frage beziehen, wieviel Komplement man, um einen bestimmten Grad der Hämolyse zu erzielen, bei Gegenwart verschieden bemessener Quanten hämolysischen Ambozeptors benötigt, zeigen dies ganz klar und unzweideutig. Dasjenige Ambozeptorminimum (Ambozeptoreinheit) nämlich, welches zur kompletten Hämolyse bei Gegenwart von 0,1 ccm Komplement erforderlich ist, kann bei Herabsetzen des Komplementquantums auf 0,01 ccm keine Hämolyse mehr bewirken, während letzteres dieselbe Menge von Erythrocyten noch hämolysieren kann, wenn man den

1) Es sei hier erwähnt, daß nicht jedes Präparat der acetonunlöslichen Lipoidfraktion als Antigen geeignet ist, sondern man verwende nur solche, welche in Menge von 0,02 ccm oder weniger einer 0,3-proz. Emulsion (in physiologischer Kochsalzlösung) eine komplette Hemmung der Hämolyse in Verbindung mit 0,02 ccm von aktivem syphilitischen Serum bewirken können, ohne daß die Menge von 0,4 ccm der Emulsion eine hämolysische oder antikomplementäre Eigenschaft besitzt. Für die genauen Angaben siehe unsern soeben zitierten Artikel.

Ambozeptor verzehnfacht. Will man nun eine für quantitatives Arbeiten verwertbare Methode der Komplementbindungsreaktion konstruieren, so ist es von großer Bedeutung, diese wechselseitige Abhängigkeit von Komplement und Ambozeptor bezüglich ihrer Aktivität zu beachten, ja, man muß sagen, daß es bedeutungslos ist, die Menge des zur Reaktion verwendeten Komplementes genau zu kennen, wenn man nicht gleichzeitig die Menge des Ambozeptors, der mit dem Komplement wirken soll, genau ermittelt hat. Man darf nicht vergessen, daß eine und dieselbe Menge Komplement zwei sehr verschiedene Grade von Hämolyse hervorbringen kann, wenn sie mit bezw. verschiedenen Mengen von Ambozeptor kombiniert wird. Wollte man also, ohne die Menge aktiven Ambozeptors zu berücksichtigen, den Betrag von Komplement lediglich nach dem Grad der eintretenden Hämolyse beurteilen, so wäre man imstande, zwei oder auch mehr verschiedene Resultate bei aktuell gleicher Quantität des Komplements, je nach dem jeweiligen Mischungsverhältnis der Konstituenten, auszurechnen. Da in serologischen Arbeiten dieser doch sehr wichtige Punkt anscheinend nicht genügend geklärt wird, halte ich es für nötig, hier einige experimentelle Daten zu geben, welche zur Illustration der Wirkungsweise verschieden gewählter Quanten von Komplement und Ambozeptor (auf den Grad der erzielten Hämolyse bezogen) dienen mögen. Da unser Hauptinteresse der Wassermannschen Reaktion zugewendet ist, habe ich hier das heterolytische System mit Antihammelambozeptor und frischem Meerschweinchenblutserum als Komplement gewählt, im übrigen die Bedingungen der hämolytischen Versuchsreihen der ursprünglichen Wassermannschen Methode gemäß angeordnet. Der Antihammelambozeptor stammt von einem Kaninchen, welches mit gewaschenen Schaferythrocyten immunisiert wurde. Die Gesamtmenge des Volumens in jedem Proberöhrchen beträgt 5 ccm.

Tabelle II.

Versuchsreihen zur Darstellung der engen quantitativen Wechselbeziehungen zwischen Komplement und Ambozeptor. Als Indikator der Hämolyse diente 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung gewaschener Schaferythrocyten. Nach zweistündiger Inkubation bei 37° C wurden die Proberöhrchen über Nacht auf Eis gestellt und dann das Endresultat abgelesen.

Betrag des Komplements (vom Meer-schweinchen)	Betrag des Antischafambozeptors (vom immunisierten Kaninchen)									
	1. Serie 0,00004	2. Serie 0,00006	3. Serie 0,00012	4. Serie 0,00024	5. Serie 0,0003	6. Serie 0,00042	7. Serie 0,0006	8. Serie 0,0012	9. Serie 0,0024	10. Serie 0,0048
0,1	90 %	100 %								
0,08	50 "	70 "								
0,06	30 "	50 "	100 %							
0,05	20 "	30 "	90 "							
0,04	10 "	10 "	40 "							
0,03	0	5 "	20 "	100 %						
0,025		0	10 "	90 "						
0,02			0	70 "	100 %					100 %
0,015				20 "	50 "	100 %			100 %	90 "
0,01				5 "	20 "	80 "	100 %	100 %	80 "	50 "
0,007				0	20 "	40 "	50 "	50 "	40 "	10 "
0,005					0	10 "	20 "	20 "	10 "	0
0,004						0	0	0	0	
0										
Ambozeptoreinheit (E) in jeder Serie	$\frac{2}{3}$ E	1 E	2 E	4 E	5 E	7 E	10 E	20 E	40 E	80 E
Komplementamplitude für 100 % Hämolyse	> 0,1 0,03	0,1 0,025	0,06 0,02	0,03 0,007	0,02 0,005	0,015 0,004	0,01 0,004	0,01 0,004	0,015 0,004	0,02 0,005
Aktivitätskonstante des Komplements für 100 % Hämolyse	< 1 0,8	1 1	1,66 1,25	3,33 3,57	5 5	6,66 6,25	10 6,25	10 6,25	6,66 6,25	5 5

Aus obiger Tabelle ersieht man, in wie verschiedenem Mengenverhältnis man Komplement und Ambozeptor zum Erzielen der nämlichen hämolytischen Wirkungen kombinieren kann.

Indem wir nunmehr unsere Aufmerksamkeit den Wirkungen variabler Ambozeptormengen auf die Komplementbindungsreaktion zuwenden, können wir uns von folgender Tatsache überzeugen: Bei Verwendung einer Einheit des Ambozeptors ist in einem gegebenen Falle der Ausschlag der Komplementbindungsreaktion schärfer, als bei zwei Ambozeptoreinheiten, verwendet man aber 2 Einheiten, so ist die Reaktion wieder empfindlicher als bei Zusatz von 4 Einheiten usw. Konstant bleibt die Schärfe des Reaktionsausschlages erst bei Zusatz von über 20 Einheiten. Dies heißt nun nichts anderes, als daß ein und dasselbe Serum eine negative oder positive Reaktion geben kann, je nach dem Betrag von Ambozeptor, der in der Mischung anwesend ist. Versuche über diese Fragen sind wiederholt seit 1908 in meinem Laboratorium angestellt worden,

und die experimentellen Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle skizziert.

Tabelle III.

Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion mit verschiedenen Beträgen von Ambozeptor. Das Antigen stammt von syphilitischer Fötusleber. Alle Anordnungen entsprechen genau der Originalmethode des Wassermannschen Systems.

Menge des syphilitischen Serums	Menge des Antischafblutambozeptors (vom immunisierten Kaninchen)						
	1. Serie 0,00006	2. Serie 0,00012	3. Serie 0,00024	4. Serie 0,00048	5. Serie 0,0012	6. Serie 0,0024	7. Serie 0,0048
0,03					0	0	0
0,025				0	10%	5%	5%
0,02				3%	70 „	100 „	100 „
0,017			0	65 „	100 „		
0,013			25%	100 „			
0,01		0	100 „				
0,008		5%					
0,006		30 „					
0,005	0	100 „					
0,004	5%						
0,003	30 „						
0,0025	100 „						
0,002							
0,0017							
Ambozeptoreinheiten (E) in jeder Serie	1 E	2 E	4 E	8 E	20 E	40 E	80 E
Titer des positiven Serums für jede Serie	0,005	0,008	0,013	0,02	0,025	0,025	0,025
Einheiten des syphilit. Antikörp. in 0,2 ccm	40	25	15	10	8	8	8
Komplementbindung hört auf bei	0,0025	0,004	0,008	0,01	0,013	0,017	0,017
Interpretation der Versuchsreihen	überempfindlich wegen unzureichendem Ambozeptor	reeller Titer	gradweise Herabsetzung des Serumtiters durch Zusatz steigender Ambozeptormengen				konstante Zone
			Positive Reaktion mit dem reellen Titer des Serums nicht mehr auszulösen				

Die in Tabelle III zusammengefaßten Ergebnisse beziehen sich auf Versuchsreihen, welche die Zusammenstellung verschiedener Quantitäten eines syphilitischen Serums mit variierenden Mengen Antihammelimmunambozeptors bezweckten.

Die Tabelle selbst genügt zur Erklärung der in ihr gruppierten Resultate.

Man kann nun die Frage aufwerfen, ob man wirklich solchen Bedingungen, wie den eben diskutierten und demonstrierten, begegnet oder nicht. Das läßt sich natürlich leicht nachweisen. Meine eigenen Studien über das Vorkommen natürlicher Antihammelambozeptoren im menschlichen Serum in Gesundheit oder Krankheit, die sich auf über 300 von mir untersuchte Fälle beziehen, sollen zur Klärung dieser Frage beitragen.

Tabelle IV.

Enthaltend eine Analyse von 326 Menschensera, speziell bezüglich ihres Gehaltes an natürlichem Antischafblutambozeptor.

Die Minimalmenge inaktivierten Serums, welche in Gegenwart von 0,1 ccm frischen Meerschweinchenserums (Komplement) komplette Hämolyse eines Kubikzentimeters einer 5-proz. Aufschwemmung gewaschener Schaferythrocyten hervorbringt, wird hier als eine Ambozeptoreinheit bezeichnet. Vor Ablesung des Ergebnisses wurden die Proberöhrchen 2 Stunden lang bei 37° C inkubiert und dann noch über Nacht auf Eis aufbewahrt.

	Zahl der Serumproben	Einheiten von Antischafblutambozeptor in 0,2 ccm Menschenserum										
		keine	< 1	1	2	3	4	5	6	7	8	über 10
Syphilitische Krankheiten	190	19	21	42	21	25	26	17	8	4	3	4
Nichtsyphilitische Krank- heiten	111	3	15	25	31	10	12	8	5	1	.	1
Normale Sera	25	1	3	5	4	3	1	2	2	3	1	.
Summa	326	23	39	72	56	38	39	27	15	8	4	5

Die in obigem in statistisch-tabellarischer Form mitgeteilten Untersuchungen über Vorkommen und Mengenverhältnisse natürlicher Antihammelambozeptoren im menschlichen Blutserum genügen völlig zum Erweis der Schwierigkeit, welche sich der quantitativen Abmessung der komplementbindenden Substanz eines zu untersuchenden Serums dann entgegenstellen müssen, wenn man sich des Antihammelambozeptors und der Hammelerythrocyten als hämolytischen Indikators bedient. Weiterhin zwingen diese Tatsachen zu der Schlußfolgerung, daß eine negative Reaktion mit der Wassermannschen Methode entweder eine wirklich oder eine fälschlich negative ist, fälschlich negative dann, wenn sie mit einem Serum hervorgebracht ist, welches einen geringen

Betrag des Luesantikörpers, aber einen starken (Ueberschuß) Betrag des natürlichen Antihammelambozeptors enthält. Eine mit derselben Methode erhaltene positive Reaktion bedeutet also entweder ein Serum, welches gerade eine Einheit von Luesantikörper und keinen natürlichen Antihammelambozeptor enthält, oder aber ein Serum, das verschiedene Einheiten von Luesantikörper und mehr als 10 Einheiten des natürlichen Ambozeptors enthält. Es läßt sich daher in keiner Weise rechtfertigen, eine Methode, bei der sich jeder Faktor unter quantitativer Kontrolle befindet und welche von einem kompetenten Forscher auf serologischem Gebiet gehandhabt wird, schlechthin unbrauchbar oder überempfindlich zu schelten, wenn mit ihr eine positive Reaktion in Fällen erhalten wird, in denen die Wassermannsche Methode ein negatives Ergebnis anzeigt, es sei denn, daß das untersuchte Serum den natürlichen Antihammelambozeptor nachweislich nicht enthalten hat. In diesem Zusammenhang möchte ich auf den Grund hinweisen, weswegen die Bauersche Modifikation sich zuweilen der Originalmethode Wassermanns an Empfindlichkeit überlegen zeigt; es erklärt sich dies durch unzureichende Menge des (natürlichen) Ambozeptors in solchen Serumproben, die hinter dem von Wassermann geforderten Betrage von 2 Einheiten zurückbleibt. Für quantitatives Arbeiten eignet sich Bauers Modifikation nicht, einmal, weil die Menge des Ambozeptors in jedem Serum unbekannt bleibt; zweitens aber auch, weil es nicht möglich ist, durch die Verdünnungsmethode den Titer des Serums festzustellen, denn durch Verdünnung wird der natürliche Antihammelambozeptor überhaupt zu schwach werden, um noch irgendwelche Hämolyse zu bewirken. Bezugnehmend auf andere Abänderungen der Originalmethode, bei welchen das arteigene Komplement und der in dem zu untersuchenden Serum enthaltene natürliche Ambozeptor als Komponenten des hämolytischen Systems verwendet werden (mit tierischen Erythrocyten, wie vom Schaf — Hecht und Stern, vom Meerschweinchen — Tschernogubow, vom Kaninchen — Foix), will ich in Kürze einige Schwierigkeiten, die durch diese Anordnung entstehen, hervorheben. Erstlich sind weder Komplement noch Ambozeptor quantitativ durch gesonderte Titrierung bestimmt, also ungenau. Der Betrag natürlichen Ambozeptors ist in verschiedenen Individuen durch-

aus variabel, ja mit Bezug auf eine bestimmte Tierart fehlt er zuweilen ganz, ist in anderen Fällen wieder in beträchtlichem Ueberschuß vorhanden. Weiterhin, man muß das Serum untersuchen, bevor die Komplementwirkung zerstört ist. Gewisse Bestandteile eines aktiven Serums können im Verein mit gewissen Proteinsubstanzen, die etwa im Antigen enthalten sein können, nicht-spezifische Komplementbindung bewirken. Tritt also mit einem verdächtigen Serum Komplementbindung ein, so kann man nicht immer beweisen, ob die Reaktion auf die dem betreffenden Antigen eigentümliche Wirkung oder auf die der etwa vorhandenen spezifischen Luesantikörper zurückzuführen ist. Für quantitative Arbeiten gar, welche mit der Methode gradweiser Verdünnung durchzuführen wären, ist dies Verfahren ganz ungeeignet, weil durch die Verdünnung sowohl Komplement als Ambozeptor des betreffenden Serums viel zu schwach werden, um überhaupt noch Hämolyse zu bewirken, lange bevor der im Serum eventuell vorhandene Luesantikörper austitriert ist. Die Sternsche Methode ist da ebenso unzureichend wie die Hechtsche, und das Hinzufügen von Immun-Antischafblutambozeptor erweitert die Möglichkeit quantitativer Verwertung auch nicht. Tschernogubow gebraucht undefibriniertes Blut in Salzlösung als Komplementquelle und Erythrocytenindikator, um den in demselben Blut eventuell gegenwärtigen Antikörper zu entdecken. Seine Methode steht denselben Einwänden offen, wie irgendeine andere, in welcher 2 von den 3 Komponenten eines hämolytischen Systems in demselben Blutserum enthalten sind, in welchem gleichzeitig die Gegenwart des Luesantikörpers festgestellt werden soll. Die quantitative Seite des Gegenstandes wird bei dieser Methode natürlich ganz außer Acht gelassen, und zweifelsohne hat der Autor dieses System längst verworfen. Man möchte sich beinahe wundern, daß von verschiedenen Seiten aus diese Modifikation mit der meinen zusammengeworfen werden konnte, lediglich auf Grund ganz oberflächlicher Aehnlichkeiten. Schließlich möchte ich hervorheben, daß meine Methode mit allen notwendigen Kontrollen arbeitet, und daß diese Tatsache nicht minder als die sorgfältige quantitative Abwägung der einzelnen Reagentien sie immerhin so deutlich hervorheben sollte, daß man sie nicht mit jener vereinfachten Modifikation v. Dungen's verquickte.

Ein anderer wesentlicher Unterschied zwischen dieser und meiner Methode ist auch noch die Quelle des Antimensch-ambozeptors. Ich erzeuge den Ambozeptor im Organismus des Kaninchens und empfehle den von der Ziege stammenden keineswegs, da meiner schon früh gemachten Erfahrung zufolge dieser letztere noch verschiedene Stunden nach stattgehabter Inkubation Hämolyse erzeugt, und zwar selbst mit sehr stark positiven Sera, während der ersterwähnte Ambozeptor diese „Nachlösung“ nicht bewirkt.

Bevor ich eine genauere Beschreibung meiner quantitativen Methode gebe, möchte ich nachdrücklich darauf hinweisen, daß die von der Gegenwart natürlichen Ambozeptors im Patientenserum herzuleitende Fehlerquelle schlechterdings nicht entfernt werden kann. Was im Grunde soll es denn schließlich nützen, den Betrag des Immunambozeptors, welchen man einem Serum zusetzen will, quantitativ festzulegen, wenn dieses selbe Serum natürlichen Ambozeptor in unbekannter Menge, zuweilen sogar im beträchtlichen Ueberschuß enthält, also in dieser Hinsicht stark variable Eigenschaften aufweist, die unserer Kontrolle naturgemäß entrückt bleiben? Verfährt man auf diese Weise, so muß folgerichtig die in der Mischung tatsächlich vorhandene Menge des Ambozeptors unbekannt bleiben.

Aus solchen Erwägungen folgt unzweideutig, warum es wesentlich ist, daß jede der beim Komplementbindungstest beteiligten Komponenten einzeln und für sich eingeführt werde und nicht etwa zwei oder mehr in einem und demselben Medium.

Ich will jetzt meine Methode der Komplementbindungsreaktion zum Zwecke der Syphilisdiagnose derselben kritischen Analyse unterwerfen.

Die das Komplement, den Ambozeptor, die Erythrocyten, das Antigen und den Antikörper enthaltenden Flüssigkeiten stellen getrennte, voneinander unabhängige Medien dar, und jeder dieser Faktoren kann vor dem Anstellen der Reaktion mit großer Genauigkeit titriert werden, ja, da sie quantitativ absolut kontrolliert werden können, kann von einer Gefahr, unvermeidlich entweder zu viel oder zu wenig eines dieser Faktoren in die Reaktion einzuführen, gar keine Rede sein.

Die Gefahr, Reaktionen von unspezifischer Hämolysehemmung in Kauf nehmen zu müssen, wird dadurch beseitigt, daß alle Proteinsubstanzen durch Fraktionieren des Antigenpräparates entfernt werden. Auf Grund biochemischer Methoden, deren sich alle diejenigen, welche sich vorurteilslos für diese Frage interessieren, gewiß gern bedienen werden, wird so die Frage, ob ein Antigenpräparat sich zur Verwendung

eignet oder nicht, präziser erörtert; diejenigen Substanzen, welche hämolytisch wirken oder antikomplementäre Eigenschaften haben, wie dies bei manchen unfractionierten alkoholischen Organextrakten zutrifft, werden eliminiert und auf diese Art nicht nur die Nutzbarkeit und Dosierungsbreite der so hergestellten Antigenpräparate vergrößert, sondern auch deren Haltbarkeit wesentlich verlängert. Die Reaktion kann sowohl mit aktiven als mit inaktivierten Serumproben angestellt werden.

Wassermann und Meier legten meiner Modifikation zur Last, daß Komplementbindung durch Bildung eines auf Menscheneiweiß eingestellten Präzipitins im Blute des immunisierten Tieres (Kaninchen) bewirkt sein könne. Diesen Einwand kann ich füglich zurückweisen, da ich zu Immunisierungszwecken nur sorgfältig gewaschene Erythrocyten verwende (und ich kann mir in der Tat nicht vorstellen, daß irgendein Forscher im Felde der Immunitätsforschung eine solche Möglichkeit übersehen und etwa nicht genügend gewaschene Erythrocyten injizieren könnte!). Eine Entwicklung eines spezifischen Präzipitins in dem den Ambozeptor enthaltenden Immunserum findet somit nicht statt. Meine eigene persönliche Erfahrung erstreckt sich auf über 100 Kaninchen, die bei verschiedenen Gelegenheiten seit 1908 immunisiert worden sind, und ich habe mit meinem Ambozeptor eine Neisser-Sachs-Reaktion niemals beobachtet. Wäscht man das Blut (defibriniertes oder mit Natriumcitratlösung versetztes) mit dem 10-fachen Volumen 0,9-proz. Chlornatriumlösung dreimal hintereinander gründlich aus, so genügt dies völlig, um alles Serum oder Plasma bis zu dem Grade zu entfernen, daß mit der nach dem letzten Zentrifugieren über dem Erythrocytensediment stehenden klaren Flüssigkeit eine Eiweißreaktion nicht mehr erhalten werden kann. Irgendwelche andere zum Hervorbringen eines Immunambozeptors bestimmte Erythrocyten wasche ich genau so gründlich, und es ist durchaus im Punkte der Technik nicht schwieriger, menschliche Erythrocyten zu waschen, als dies für tierische Erythrocyten der Fall ist.

Es mag wohl von einigem Interesse sein, auszufinden, was dabei herauskommt, wenn man absichtlich Menschenserum in die Vene eines Kaninchens einspritzt, wenn man seine

Aufmerksamkeit der Bildung eines spezifischen Präzipitins und der durch dieses bedingten Komplementbindung zuwendet. Zufällig bin ich im Besitz der Resultate einer Reihe von Experimenten, in welchen für andere Zwecke spezifisches Präzipitin gewonnen wurde. Die betreffenden Protokolle mögen daher auszugsweise hier angeführt werden.

Bezüglich der Methode sei bemerkt, daß ich verschiedenen Kaninchen 2, 5 und 8 ccm menschlichen, von normalen, syphilitischen und leprösen Individuen gewonnenes Serum in 5-tägigen Intervallen in die Marginalvene injizierte. Diesen Tieren wurden 9 Tage nach der letzten Injektion Blutproben entzogen, deren komplementbindende Eigenschaften nach Bildung eines gegen menschliches Serumeiweiß gerichteten Präzipitins sich, wie folgt, darstellen.

Tabelle V.

Zeigt die komplementbindende Kraft der Mischung, die das Präzipitat enthält.

Immunserum (Präzipitin)	Menschliches Serum (Präzipitinogen)		Präzipitat	Komplement- bindung ²⁾		Betrag des zur völligen Komplement- fixierung nötigen Im- munserums
				A. Teil- weise bei	B. Voll- ständig bei	
No. 1	2 ccm	Normalserum	1 ccm	reichlich	0,08 ccm	0,08 ccm
	2 "	Syphilitisches Serum	1 "	"	0,05 "	< 0,06 "
	2 "	Lepraserum	1 "	"	0,06 "	0,06 "
	2 "	Ascitesflüssigkeit	2 "	spärlich	0,3 "	0,5 "
	2 "	Pferdeserum	1 "	kein	keine	keine
	2 "	Schafserum	1 "	"	"	"
No. 2	2 "	Hühnereiweiß (1:5)	1 "	"	"	"
	1 "	Normalserum	0,5 "	reichlich	0,08 ccm	0,12 ccm
	1 "	Syphilitisches Serum	0,5 "	"	0,06 "	0,10 "
	1 "	Lepraserum	0,5 "	"	0,06 "	0,09 "
No. 3	1 "	Tabesserum	0,5 "	"	0,05 "	0,08 "
	1 "	Normalserum	0,5 "	"	0,06 "	0,08 "
	1 "	"	0,5 "	"	0,06 "	0,10 "
	1 "	"	0,5 "	"	0,06 "	0,12 "
No. 4	1 "	Syphilitisches Serum	0,5 "	"	0,08 "	0,10 "
	1 "	"	0,5 "	"	0,06 "	0,10 "
	1 "	"	0,5 "	"	0,08 "	0,12 "
	1 "	Lepraserum	0,5 "	"	0,06 "	0,09 "
Antieiweiß- serum ¹⁾ (Präzipitin)	2 "	Eiweißlösung ¹⁾	1 "	"	0,06 "	0,08 "
	2 "	Normalserum	1 "	kein	keine	keine
	2 "	Syphilisserum	1 "	"	"	"

1) Aus dem Hühnerei.

2) Gegen 0,04 ccm vom Meerschweinchenserum.

Die in obiger Tabelle angeführten experimentellen Daten ergeben die Tatsache, daß das Serum einer Reihe von mit ziemlich beträchtlichen Quanten Menschenserum vorbehandelten Kaninchen (das Serum 3-mal in Intervallen direkt in die Ohrvene injiziert) ein für menschliches Serum im allgemeinen spezifisches Präzipitin enthält, ergeben des weiteren, daß beim Mischen von Menschenserum mit diesen Immunsera ein reichliches Präzipitat auftritt, und schließlich, daß die dieses Präzipitat enthaltende Flüssigkeit Meerschweinchenkomplement in gewissen Mengenverhältnissen zu binden vermag. Dies ist das klassische Neisser-Sachs-Phänomen. Wir wollen nun die Frage aufwerfen, eine wie große Quantität solchen präzipitinhaltigen Serums zur Fixierung von 0,04 ccm Komplement erforderlich ist, des Betrages also, der bei meiner Methode der Komplementbindungsreaktion zur Verwendung kommt. Mit Ausnahme einer einzigen Serumprobe, deren komplementbindende Kraft erheblich geringer war, bewegten sich die zur Fixierung benötigten Mengen zwischen 0,08 und 0,06 ccm. Ich habe dann auch noch mit anderen Mischungsverhältnissen des Immunserums und des Menschenserums gearbeitet, aber 2:1 ergab die vollständigste Fällung, so daß also die oben angeführten Quanten der präzipitierenden Sera als Minimumzone aufzufassen sind. Welche Schlüsse kann man nun aus den obigen Versuchen ziehen? Die präzipitierenden Immunsera, welche speziell für solchen Zweck (Komplementbindungsreaktion) durch wiederholte intravenöse Injektionen hergestellt wurden, können 0,04 ccm Komplement nicht binden, wenn sie nicht in einer Menge von wenigstens 0,06 ccm zur Verwendung kommen.

Wie können wir dann die Bildung von genügend Präzipitin im Serum von Kaninchen erwarten, die 5-mal in Intervallen mit intraperitonealen Injektionen sorgfältigst gewaschener Menschenerythrocyten zum Zweck der Immunisierung vorbehandelt wurden, genügend, um irgendwelches Quantum von Komplement zu binden und so die Wassermannsche Reaktion zu stören? Man muß sich in diesem Zusammenhang daran erinnern, daß der Gehalt des von mir zur Komplementbindungsreaktion empfohlenen Immunserums an Ambozeptoraktivität so bemessen ist, daß 0,01 ccm dieses Serums schon zu den bezüglich Ambozeptorgehaltes schwächsten Sera zählen würden, während die Sera, welche ich für gewöhnlich zur

Komplementbindungsreaktion verwende, bezüglich ihres Ambozeptorgehaltes so austitriert sind, daß schon 0,001 ccm Serumzusatz zur Reaktion genügen. So kann man ruhig sagen, daß von dieser Seite aus der Schärfe die Reaktion keine Einbuße erwachsen kann. Wie könnte wohl auch jemand mit der Ausführung der Komplementbindungsreaktion zustande kommen wollen, wenn schon die Mischung eines Immunambozeptorserums mit menschlichem (normalem, syphilitischem oder anderem) Serum Komplementbindung bewirkte! Meine Methode ist zu gut durch jede notwendige Kontrolle geschützt, als daß sie das Opfer einer solchen Falle sein könnte.

Ich habe nun meines Erachtens den Aufbau meiner Methode der Serumdiagnose der Syphilis zur Genüge analysiert. Einem jeden, der eine vorurteilslose Kritik walten lassen will, sollte es klar sein, daß meine Methode in größter Weise entstellt und einer durchaus absurden Kritik unterworfen worden ist, die sie, vom theoretischen und praktischen Standpunkt aus betrachtet, ganz und gar nicht verdient.

Im folgenden will ich nun des weiteren eine Methode der quantitativen Bestimmung der im syphilitischen Serum enthaltenen reagierenden Substanz durch meine Methode der Komplementbindungsreaktion erörtern.

Titration der lipotropen komplementbindenden Substanz. (Reagin von Citron, Fixin von G. Meier.)

Es gibt wenigstens zwei Arten, den Betrag reagierender Substanz, der in einem Serum oder in Cerebrospinalflüssigkeit enthalten ist, mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion quantitativ zu ermitteln. Die erste Art ist, den Betrag von Komplement zu finden, der durch eine gegebene Quantität des Specimen gebunden wird, die zweite besteht darin, diejenige kleinste Quantität des zu untersuchenden Specimens zu ermitteln, welche in Gegenwart eines bestimmten und ein für allemal festzulegenden Betrages wirksamen Komplementes noch dessen völlige Bindung (absolute Hemmung der Hämolyse) bewirkt. Beide Arten experimentellen Vorgehens sollten sich verlässlich erweisen, solange man eben die andern Faktoren quantitativ kontrolliert. Eingedenk jedoch des Betrages von Serumprobe, welcher zur vollständigen Titration nötig ist, ziehe ich die zweite der ersterwähnten Methode vor, weil in

der zweiten dieser Betrag ungemein viel geringer ist und man auch erheblich an Komplement spart. Gleichzeitig ergibt das zweiterwähnte Vorgehen eine schärfere Austitrierung.

Austitrierung von Serumproben und Anfertigen von Stammverdünnungen zum Zweck der Titrierung.

Am vorteilhaftesten bereitet man sich eine genügende Quantität einer zweckentsprechenden Verdünnung eines gegebenen Specimens, sei es nun Blutserumprobe oder Liquor cerebrospinalis. Von dieser Verdünnungslösung mißt man bestimmte Quanten in einer Serie von Reagenzröhrchen ab und macht die Komplementbindungsreaktion mit diesen: so findet man das kleinste Quantum, welches noch völlige Hemmung der Hämolyse zeigt. Die Stärken der Verdünnungen müssen jedoch entsprechend der Natur des zu untersuchenden Specimens Abänderungen unterworfen werden, und zwar in folgender Weise:

1) Aktives Serum: Man stelle sich 5 ccm einer 2-proz. Verdünnung her, d. h. man mische 0,1 ccm des Serums mit 4,9 ccm einer 0,9-proz. Chlornatriumlösung.

2) Inaktives Serum: Für ein 30 Minuten lang auf 55° C erwärmtes (inaktiviertes) Serum kann eine 8-proz. Verdünnung empfohlen werden, welche man sich durch Mischen von 0,4 ccm des betreffenden Serums mit 4,6 ccm Kochsalzlösung herstellt. Man erhält so auch wieder 5 ccm Material der Stammverdünnung.

3) Cerebrospinalflüssigkeit: In diesem Falle fertige man eine 20-proz. Verdünnung an, indem man 1 ccm der Spinalflüssigkeit mit 4 ccm der Kochsalzlösung vermischt.

Der Grund, weswegen ich 5 ccm der Verdünnung anfertige, ist darin zu finden, daß, obschon die zur Titration nötige Quantität Serumverdünnung weniger als 4 ccm beträgt, wie aus beifolgender Tabelle leicht ersichtlich, es sich gleichwohl ereignen kann, daß das zur Untersuchung kommende Specimen selbst noch in höheren Verdünnungsgraden positive Reaktion, d. h. Hemmung der Hämolyse zeigt. Für diesen speziellen Notfall müssen wir uns also am besten so einrichten, daß wir noch immer einen genügend großen Rest von der

ersten Verdünnung übrig behalten, um eine zweite Verdünnung zum Fortsetzen der Titrierung anfertigen zu können. Diese zweite Verdünnung bereite ich durch Mischen von 1 Volumen der ersten Stammverdünnung mit 9 Volumen der Kochsalzlösung. Die Titrationsmethode bleibt in diesem Falle dieselbe wie bei der ersten Verdünnung.

Tabelle VI.

Stammverdünnung ¹⁾ in ccm	9-proz. Chlor- natrium- lösung	Komplement 40-proz. Ver- dünnung von frisch. Meer- schweinchen- serum	Antigen Aceton-un- lös. Gewebs- Lipoide ²⁾	10-proz. Erythro- cyten- suspension	Antimensch- licher Ambo- zeptor im Kaninchens- serum ³⁾
1,0	zum Auffüllen der Stammverdünnung ent- haltenden Proberöhrchen auf 1 ccm.	0,1	0,1	0,1	2 Einheiten
0,5		0,1	0,1	0,1	2 "
0,4		0,1	0,1	0,1	2 "
0,33		0,1	0,1	0,1	2 "
0,25		0,1	0,1	0,1	2 "
0,2		0,1	0,1	0,1	2 "
0,165		0,1	0,1	0,1	2 "
0,125		0,1	0,1	0,1	2 "
0,1		0,1	0,1	0,1	2 "
kein Serum		0,1	0,2	0,1	2 "
" "		0,1	—	0,1	2 "

1) Es ist einfach, die in diesen verschiedenen abgestuften Verdünnungen enthaltenen absoluten Quanten von Serum oder Cerebrospinalflüssigkeit auszurechnen.

2) 0,02 ccm dieser Emulsion sollen genügen, um komplette Hemmung der Hämolyse in Gegenwart von 0,02 ccm eines positiv reagierenden Serums zu bewirken.

3) Das den Immunambozeptor enthaltende Kaninchenserum ist so austitriert, daß die erforderte Anzahl (2) von Ambozeptoreinheiten in 0,1 ccm des Serums enthalten ist. Arbeitet man mit Ambozeptorpapier von bekanntem Titer, so wird ein 2 Ambozeptoreinheiten entsprechendes Stück der Mischung beigegeben.

4) Inkubation der Proberöhrchen bei 37° C 1 Stunde lang (30 Minuten im Wasserbad). Sorgfältiges Mischen (häufiges Durchschütteln) aller in Betracht kommenden Reagentien. Nach vollendeter Inkubation Hinzufügen der nachfolgenden Reagentien.

5) Nach sorgfältigem Mischen des Inhalts müssen die Proberöhrchen wieder 2 Stunden lang (1 Stunde im Wasserbad) bei 37° C inkubiert werden. Häufiges Durchrühren oder Durchschütteln während der Inkubation ist nötig. Arbeitet man mit Ambozeptorpapier, so muß man diese Prozedur schon innerhalb der ersten halben Stunde der Inkubation mehrfach vornehmen. Nach Ablauf der Inkubation müssen die Röhrchen bei Zimmertemperatur noch einige Stunden stehen gelassen werden, ehe die endgültige Ablesung des Reaktionsausfalles geschieht.

Untersucht man Durchschnittsproben syphilitischer Sera, so wird man die oben gewählten Mengenverhältnisse ganz geeignet finden, um ihren Titer (die kleinste Menge von Serum, die bei Konstanz der anderen Faktoren noch gerade völlige Hemmung der Hämolyse bewirkt) festzulegen. Bei der Untersuchung von Serumproben von Fällen manifester Syphilis mit unzureichender oder ohne alle therapeutische Beeinflussung stellten sich meinen Erfahrungen nach die kleinsten, noch gerade Hemmung der Hämolyse bewirkenden Quanten auf 0,25, 0,2 bis zu 0,1 ccm der ersten Stammverdünnung dar. Selten fanden wir einen besonders hohen Titer, der noch unter 0,1 rangierte, doch muß erwähnt werden, daß einige wenige Proben einen Titer von 0,05 (d. h. 0,5 ccm der zweiten Verdünnung) erreichten. Rechnet man sich von diesen Volumzahlen ausgehend die absoluten Werte aus, so entspräche 0,05 der ersten Verdünnung 0,001 ccm des aktiven Serums. Es ist möglich, Sera mit noch höherem Titer anzutreffen, ich erinnere mich einer Blutprobe, welche mit der Wassermannschen Methode (antischafhämolytisches System) untersucht einen Titer von 0,0006 aufwies.

Da die Wassermannsche Reaktion allmählich verschwindet, wenn erfolgreiche Therapie eingeleitet wird, so wird in solchen Fällen die Titration weniger schwierig, da man in dem Maße, wie der Titer allmählich absinkt, die die ganz geringen Minimalmengen des zu untersuchenden Serums enthaltenden Proberöhrchen allmählich ausschalten kann. Als ich kürzlich den Heileffekt von Ehrlich-Hatas neuer Arsenverbindung (606) an über 100 Fällen manifester Syphilis mit positiver Wassermannscher Reaktion nachprüfte, fand ich vor der Injektion dieser Verbindung den Titer dadurch heraus, daß ich alle in obiger Tabelle aufgeführten Dosen der betreffenden Stammverdünnungen herstellte, denn einige dieser Sera hatten einen Titer, der so schwach war, daß er 0,02 (1 ccm der Stammverdünnung) entsprach, bei anderen wieder war der Titer ungemein hoch, bis zu 0,002 (0,1 ccm Stammverdünnung). Die spätere Titration dieser Sera gestaltete sich allerdings erheblich einfacher, da bei allen denen, deren Titer schon von vornherein sich als schwach erwiesen hatte, eine ganze Reihe der bei der ersten Feststellung mit minimalen Mengen beschickten Proberöhrchen in Wegfall kommen konnte. In 30 Proz. dieser Fälle verschwand die Reaktion ziemlich (2–6 Wochen) schnell, in andern wieder äußerst langsam. In einigen dieser Fälle versetzte ich die das hämolytische System und Antigen enthaltende Mischung sogar mit bis zu 0,04 ccm aktiven Serums, um auch noch die schwächste Reaktion, die noch etwa dagewesen sein könnte, zu entdecken, dies würde der doppelten Dose eines Kubikzentimeters der gewöhnlichen Stammverdünnung entsprochen haben.

50*

Man kann die Stärke eines positiv reagierenden Serums ja nun auf verschiedene Weise ausdrücken. Ich bevorzuge es, diesen Wert in Einheiten auszudrücken. Im Standardvolumen (1 ccm der Stammverdünnung) mag also, entsprechend der Stärke eines Serums, irgendeine Anzahl von Einheiten der lipotropischen Substanz (Reagine) enthalten sein. Da die größte Menge der verwendeten Stammverdünnungslösung 1 ccm (das Standardvolumen meiner Methode) beträgt, so ist die Anzahl der Einheiten auf dies Volumen zu beziehen. Von der Stammverdünnung kann man dann wieder die absoluten Werte berechnen, die bei Verwendung aktiven Serums sich auf 0,02 ccm, bei der Verwendung inaktivierten Serums auf 0,08 ccm und bei der Verwendung von Liquor cerebrospinalis auf 0,2 ccm beziehen würden, wenn man in jedem Falle 1 ccm der Stammverdünnung als Volumeneinheit annimmt. Ein praktisches Beispiel: Die von einem zu untersuchenden Serum nach obiger Vorschrift angefertigte Stammverdünnung beginnt, die Hämolyse zu hemmen, wenn sie in einem Kubikzentimeter des Reagenzgemisches (Komplement, Ambozeptor, Antigen, Erythrocyten, physiologische Kochsalzlösung) in einer Menge von 0,125 ccm gegenwärtig ist. Man muß dann sagen, daß dieses Serum 8 Einheiten ($\frac{1}{0,125} = 8$) des Antikörpers enthält, woraus auch folgt, daß ein Serum, welches den Titer 1 ccm aufweist, nur eine Einheit ($\frac{1}{1} = 1$), eins mit dem Titer 0,5 ccm 2 Einheiten ($\frac{1}{0,5} = 2$) enthielte usw. In folgender Tabelle findet man einige Verhältniszahlen:

Serumtiter	Einheiten des Antikörpers in 1 ccm
1 ccm	1
0,5	2
0,4	2,5
0,33	3
0,25	4
0,2	5
0,165	6
0,125	8
0,1	10

Ein schwaches Serum, welches in einer Dosis von 0,04 ccm (entsprechend 2 ccm d. Verdünnung) die Hämolyse hemmt, hat nur

eine halbe Einheit ($\frac{1}{2}=0,5$). Es ist jedoch nicht statthaft, die Serummenge noch weiter zu vergrößern. Andererseits könnte man ja noch den Grad partieller Hemmung der Hämolyse angeben, wenn bei dieser Maximaldosis (0,04 ccm) das zu prüfende Serum die Hämolyse nicht völlig hemmt.

Da es sich nun durchaus nicht immer so trifft, daß die Hemmung der Hämolyse gerade in einer dieser abgestuften Mengen von Versuchsserum ganz genau und überschußlos vollständig ist, so ist es von Vorteil, den Grad eventuell teilweiser Hemmung in dem der Reihe nach nächsten Proberröhrchen zu beachten, wo man also ganz verschiedene Grade der Hämolysehemmung wird beobachten können und mit Hilfe dieses Verfahrens wenigstens die in der Reihe vorhergehenden Proberröhrchen, die komplette Hemmung der Hämolyse aufweisen und so ununterscheidbar scheinen, voneinander zu differenzieren. Diejenige erste Quantität, welche keine Hemmung der Hämolyse mehr bewirkt, muß man gleichfalls notieren. Wenn auch diese Vorsichtsmaßregeln nicht ganz unbedingt nötig sind, so sind sie doch von großer Hilfe.

Relativ sind die zur Reaktion verwendeten Mengen von Komplement und syphilitischem Serum, die ich in meiner Methode verwende, identisch mit den Verhältniszahlen von Komplement und Serum in der Wassermannschen Methode. Nur die absoluten Mengen sind verschieden. Im Wassermannschen System werden 2,5mal mehr an Menge gebraucht.

Mein System		Das Wassermannsche System	
Komplement	0,04 ccm	Komplement	0,1 ccm
Patientenserum		Patientenserum	
Inaktiviertes	0,08 „	Inaktiviertes	0,2 „
Aktives	0,02 „	Aktives	nicht gebraucht

Demnach müßte also die Anzahl der Einheiten syphilitischen Antikörpers, wie sie durch meine Methode bestimmt wird, mit den nach der Wassermannschen Methode durch systematische Verdünnung gefundenen Ergebnissen harmonieren. Der einzige Unterschied wäre, daß ich 2,5mal weniger Komplement und entsprechend geringere Beträge des Serums (2,5mal weniger mit inaktiviertem und 10mal weniger mit aktivem Serum) verwende, und zwar ohne Einbuße an Schärfe der Reaktion.

Beziehungen zwischen der Wassermannschen Reaktion und dem Gehalt des Serums an Globulin.

In einer früheren Mitteilung habe ich die Tatsache betont, daß der Globulingehalt syphilitischen Serums oder metasymphilitischer Cerebrospinalflüssigkeit sich in abnorm hohen Grenzen hält, und daß in den meisten dieser Fälle auch die Wassermannsche Reaktion positiv ist, so daß hier scheinbar ein gewisser Parallelismus besteht. Ich bemerke jedoch auch, daß in andern Fällen diese beiden Eigenschaften der Versuchssera nicht parallel gingen, und die eine vorhanden sein kann, während die andere fehlen mag. Die Verschiedenheit des Globulingehaltes ist oft sehr auffallend, bedeutend größer ist aber noch die Variabilität des Titers der Wassermannschen Reaktion in verschiedenen Specimen. Seither habe ich beide Phänomene bei verschiedenen Krankheiten parallel zueinander gestellt und versucht, ihre gegenseitigen Beziehungen, wenn anders solche existieren, zu verstehen.

Der Betrag eines Serums an Globulin wird durch die in der früheren Publikation bereits beschriebene Methode festgelegt.

Es werden 0,5 ccm des klaren Serums mit 4,5 ccm einer halbgesättigten Ammoniumsulfatlösung gemischt. Nachdem die Mischung 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur gestanden hat, wird das Präzipitat durch eine Zentrifuge, die 3000 Umdrehungen in der Minute macht, 30 Minuten lang bis zur konstanten Dichte niedergedrückt, die überstehende klare Flüssigkeit wird sorgfältig dekantiert und die Feuchtigkeit möglichst durch Filterpapier entfernt. Das Globulinpräzipitat wird dann gewogen.

Die Stärke der Wassermannschen Reaktion wurde sowohl durch die originale Methode als durch meine Modifikation derselben bestimmt. Auch wurde der Gehalt an natürlichen Antihämoglobinrezeptoren der zur Untersuchung gekommenen menschlichen Sera bei so vielen Serumproben bestimmt, als die Umstände es gestatteten. Die Resultate der Untersuchung von 204 Fällen von Syphilis, Metasyphilis und auch andern nichtsyphilitischen Erkrankungen sind in Tabelle VII aufgeführt. Ich will erwähnen, daß ich an nahezu 350 Seris ähnliche vergleichende Untersuchungen anstellte, doch halte ich es für unmöglich, sie alle zu protokollieren.

Tabelle VII.

Krankheit	Behandlung	Globulin in 0,5 ccm	Ausfall d. Serumreaktion		Natürlicher Antischaf- ambozeptor
			Wassermanns Orig.-Methode	Noguchis Modifik.	
			0,2 ccm	0,02 ccm	0,2 ccm
1 Lues I	keine	0,1698	< +	+	3 Einheiten
2 "	"	0,1614	±	< +	2 "
3 " (6 Tage)	"	0,1509	—	—	nicht bestimmt
4 "	"	0,1480	+	+	1 Einheit
5 "	"	0,1789	++	++	2 Einheiten
6 "	"	0,1750	++	++	1 Einheit
7 " (7 Tage)	"	0,1500	—	—	nicht bestimmt
8 "	"	0,2851	++	++	2 Einheiten
9 "	"	0,2048	+	++	5 "
10 "	"	0,1593	< +	+	3 "
11 "	"	0,1798	+	+	0 "
12 "	"	0,1995	< +	+	2 "
13 "	"	0,1330	< +	< +	0 "
14 "	"	0,1558	< +	++	4 "
15 "	"	0,2276	+	++	5 "
16 "	"	0,2307	++	++	1 Einheit
17 "	"	0,2294	++	++	4 Einheiten
18 "	"	0,2199	< +	< +	0 "
19 "	"	0,2360	+	+	0 "
20 "	"	0,1578	++	++	1 Einheit
21 Lues II	gering	0,2572	++	++	4 Einheiten
22 "	"	0,2048	++	++	8 "
23 "	"	0,2663	++	++	2 "
24 "	"	0,1347	< +	+	2 "
25 "	"	0,1493	< +	< +	nicht bestimmt
26 "	"	0,1880	++	++	" "
27 "	"	0,1945	++	++	" "
28 "	"	0,2014	++	++	" "
29 "	keine	0,1748	++	++	" "
30 "	"	0,1864	++	++	" "
31 "	"	0,1974	++	++	" "
32 "	gering	0,2350	++	++	" "
33 "	"	0,2443	++	++	" "
34 "	"	0,2165	++	++	" "
35 "	keine	0,1849	++	++	" "
36 "	"	0,1876	—	+	4 Einheiten
37 "	gering	0,2190	+	+	nicht bestimmt
38 "	keine	0,2256	—	++	10 Einheiten
39 "	gering	0,2543	++	++	nicht bestimmt
40 "	keine	0,3099	++	++	5 Einheiten
41 "	gering	0,2288	++	++	2 "
42 "	"	0,1990	++	+	2 "
43 "	"	0,2283	++	++	7 "
44 "	"	0,1728	++	++	1 Einheit
45 "	"	0,2030	++	++	3 Einheiten
46 "	"	0,1755	+	+	0 "
47 "	keine	0,1960	++	++	0 "
48 "	"	0,1857	++	++	1 Einheit
49 "	gering	0,2540	++	++	5 Einheiten

Krankheit	Behandlung	Globulin in 0,5 ccm	Ausfall d. Serumreaktion		Natürlicher Antischaf- ambozeptor 0,2 ccm
			Wassermanns Orig.-Methode	Noguchis Modifik.	
			0,2 ccm	0,02 ccm	
50 Lues II	keine	0,1360	< +	++	4 Einheiten
51 "	"	0,2399	++	++	4 "
52 "	gering	0,3110	+	++	4 "
53 "	mäßig	0,1772	+	+	2 "
54 "	"	0,2468	< +	+	3 "
55 "	"	0,2043	++	++	1 Einheit
56 "	regulär, 10 Monate	0,1650	—	< +	3 Einheiten
57 "	" 12 "	0,1465	—	—	nicht bestimmt
58 "	" 6 "	0,1705	—	—	4 Einheiten
59 "	"	0,1695	++	++	2 "
60 "	" 12 "	0,1685	+	++	10 "
61 "	" 3 Wochen	0,2314	++	++	7 "
62 "	"	0,2010	+	+	0 "
63 "	mäßig	0,1964	+	+	1 Einheit
64 "	regulär 6 Monate	0,1530	++	++	5 Einheiten
65 "	mäßig	0,2254	++	++	1 Einheit
66 "	unregelmäßig	0,1650	+	++	4 Einheiten
67 "	regulär 3 Monate	0,1850	+	++	3 "
68 "	" 2 "	0,2004	+	++	0 "
69 "	unregelmäßig	0,2443	++	++	6 "
70 "	regulär 13 Injektionen	0,2264	++	++	6 "
71 "	" 3 Monate	0,1755	—	—	1 Einheit
72 "	" 2 Jahre	0,2703	< +	++	nicht bestimmt
73 "	" 6 Monate	0,2348	< +	++	5 Einheiten
74 "	" 8 "	0,2945	< +	+	3 "
75 "	" 3 "	0,1850	++	++	2 "
76 "	" 3 "	0,1755	< +	+	8 "
77 "	" 10 "	0,1314	< +	++	4 "
78 Lues III	gering	0,1797	++	++	6 "
79 "	unregelmäßig 5 Mon.	0,3168	++	++	0 "
80 "	regulär	0,1999	+	+	1 Einheit
81 "	gering	0,1700	±	+	3 Einheiten
82 "	unregelmäßig	0,1901	+	+	1 Einheit
83 "	1 Jahr	0,2355	—	—	nicht bestimmt
84 "	wenig	0,2143	—	—	0 Einheiten
85 "	unregelmäßig	0,1977	+	+	0 Einheiten
86 "	mäßig	0,1405	+	+	1 Einheit
87 "	unregelmäßig	0,1940	+	+	0 Einheiten
88 "	mäßig	0,2022	++	++	0 "
89 "	gering	0,2004	—	< +	2 "
90 "	"	0,2120	+	++	3 "
91 "	regulär	0,1899	+	+	1 Einheit
92 "	gering	0,1660	—	+	nicht bestimmt
93 "	regulär 6 Monate	0,1333	—	< +	1 Einheit
94 "	" 5 "	0,1835	+	+	2 Einheiten
95 "	"	0,1970	+	++	1 Einheit
96 "	unregelmäßig	0,2059	+	+	7 Einheiten
97 "	innerlich	0,2059	—	+	4 "
98 "	gering	0,1735	< +	+	nicht bestimmt
99 "	regulär	0,1708	—	< +	1 Einheit
100 "	unregelmäßig	0,1907	+	+	

Krankheit	Behandlung	Globulin in 0,5 ccm	Ausfall d. Serumreaktion		Natürlicher Antischaf- ambozeptor 0,2 ccm
			Wassermanns Orig.-Methode 0,2 ccm	Noguchis Modifik. 0,02 ccm	
101 Lues III	regulär	0,1514	—	—	nicht bestimmt
102 „	mäßig	0,2514	+	++	3 Einheiten
103 „	gering	0,1917	++	++	2 „
104 „	mäßig	0,1649	—	—	nicht bestimmt
105 „	regulär	0,1515	—	—	6 Einheiten
106 „	unregelmäßig	0,1651	< +	< +	0 „
107 „	regulär	0,1713	—	+	4 „
108 Lues latens	„	0,1350	< +	+	2 „
109 „ „	„	0,1525	—	—	nicht bestimmt
110 „ „	„	0,1354	—	< +	2 Einheiten
111 „ „	„	0,1775	—	—	nicht bestimmt
112 „ „	gering	0,1285	—	+	5 Einheiten
113 „ „	regulär	0,3120	< +	+	nicht bestimmt
114 „ „	regulär 3 Monate	0,2277	+	+	„ „
115 „ „	unregelmäßig	0,2343	—	—	„ „
116 „ „	regulär 10 Monate	0,2068	< +	< +	0 „Einheiten“
117 „ „	„	0,1530	—	—	nicht bestimmt
118 „ „	regulär 10 Monate	0,2110	< +	+	2 Einheiten
119 „ „	keine	0,1860	< +	< +	1 Einheit
120 „ „	regulär	0,1501	—	< +	nicht bestimmt
121 „ „	„	0,1693	—	—	„ „
122 „ „	unregelmäßig	0,1830	< +	< +	4 „Einheiten“
123 „ „	„	0,1675	< +	< +	1 Einheit
124 „ „	regulär	0,2068	±	< +	2 Einheiten
125 „ „	„	0,1220	—	< +	nicht bestimmt
126 „ „	„	0,1455	—	+	„ „
127 „ „	„	0,1338	—	—	„ „
128 „ „	unregelmäßig	0,1404	+	+	„ „
129 „ „	regulär	0,1909	—	—	3 „Einheiten“
130 „ „	„	0,1871	—	< +	nicht bestimmt
131 „ „	keine	0,2070	+	+	2 „Einheiten“
132 „ „	regulär	0,1698	—	—	< 1 Einheit
133 „ „	unregelmäßig	0,1457	< +	+	1 Einheit
134 „ „	gering	0,2120	< +	< +	0 Einheiten
135 Lues hereditaria	mäßig	0,3157	+	+	3 „
136 „ „	regulär	0,1845	< +	+	0 „
137 „ „	gering	0,1895	< +	< +	nicht bestimmt
138 „ „	keine	0,2070	++	++	„ „
139 „ „	gering	0,2050	++	++	5 „Einheiten“
140 „ „	mäßig	0,2515	++	++	3 „
141 Lues cerebrosp.	gering	0,1888	+	++	2 „
142 dgl.	mäßig	0,1981	++	++	1 Einheit
143 „	gering	0,2150	+	+	3 Einheiten
144 Tabes	„	0,1993	—	+	nicht bestimmt
145 „	„	0,1385	< +	< +	4 Einheiten
146 „	„	0,2113	±	+	1 Einheit
147 „	„	0,1555	+	< +	1
148 „	„	0,1732	< +	+	nicht „bestimmt
149 „	„	0,1461	—	+	„ „
150 „	„	0,1977	< +	+	4 „Einheiten“
151 „	„	0,2422	< +	++	nicht bestimmt
152 „	„	0,2122	—	+	„ „
153 „	„	0,1352	—	+	„ „

Krankheit	Behandlung	Globulin in 0,5 ccm	Ausfall d. Serumreaktion		Natürlicher Antischaf- ambozeptor 0,2 ccm
			Wassermanns Orig.-Methode	Noguchis Modifik.	
			0,2 ccm	0,02 ccm	
154 Dementia paral.		0,1520	—	+	nicht bestimmt
155 dgl.		0,1890	+	+	" "
156 "		0,2011	< +	< +	" "
157 "		0,1727	< +	< +	" "
158 " (?)		0,1300	±	< +	1 Einheit "
159 Luesverdacht		0,1310	—	—	
160 "		0,1680	< +	< +	< 1 Einheit
161 "		0,2120	+	+	< 1 "
162 "		0,1465	—	—	5 Einheiten
163 "		0,2185	++	++	2 "
164 "		0,1475	—	—	2 "
165 "		0,2541	++	++	1 Einheit
166 "		0,1748	+	+	0 Einheiten
167 "		0,1669	—	—	nicht bestimmt
168 "		0,2722	++	++	1 Einheit
169 "		0,1780	—	—	2 Einheiten
170 Lues od. Carc.		0,2334	++	++	3 "
171 Lues oder De- mentia paralyt.		0,2380	+	++	6 "
172 Ulcus molle		0,1579	—	—	4 "
173 Gonorrh. acuta		0,1907	—	—	nicht bestimmt
174 dgl.		0,1363	—	—	1 Einheit
175 "		0,1919	—	—	2 Einheiten
176 "		0,1754	—	—	1 Einheit
177 "		0,1884	—	—	20 Einheiten
178 "		0,1650	—	—	4 "
179 "		0,1942	—	—	0 "
180 "		0,1520	—	—	5 "
181 "		0,2248	—	—	5 "
182 Gonorrh. subac.		0,1369	—	—	2 "
183 dgl.		0,1609	—	—	1 Einheit
184 Gonorrh. chron.		0,1825	—	—	1 "
185 dgl.		0,1418	—	—	2 Einheiten
186 "		0,1735	—	—	9 "
187 "		0,1530	—	—	0 "
188 "		0,1719	—	—	nicht bestimmt
189 Arthr. gonorrh.		0,2660	—	—	" "
190 Tuberculosis		0,2368	—	—	" "
191 "		0,2179	—	—	" "
192 "		0,2440	—	—	" "
193 "		0,2320	—	—	" "
194 "		0,2293	—	—	" "
195 Epithelioma		0,1800	—	—	" "
196 "		0,2252	—	—	" "
197 Carcin. ventr.		0,3130	—	—	" "
198 Dysent. amoeb.		0,1078	—	—	" "
199 Morbus Hodgk.		0,3883	—	—	" "
200 Leukämie		0,1830	—	—	" "
201 Syphiloph. (?)	mäßig	0,2503	+	+	0 Einheiten
202 "		0,1230	—	—	7 "
203 "		0,1607	—	—	1 Einheit
204 " (?)	keine	0,2352	++	++	2 Einheiten

Kurzes Resumé der in obiger Tabelle mitgeteilten Experimente. In 107 Fällen von aktiver Syphilis mit Einschluß der primären, sekundären und tertiären Stadien finden wir, daß in den nicht oder nur unzureichend behandelten Fällen die Wassermannsche Reaktion beinahe immer positiv ausfällt, ausgenommen in 2 Fällen von 7 Tage alten Schankern. Mehrere während einiger Monate regelrecht behandelte Fälle gaben andererseits eine negative Reaktion, bei Anwendung der Originalmethode ergab sich ein negativer Ausfall der Reaktion häufiger. In jedem Falle aber konnte ich dort, wo sich ein solcher Unterschied ergab, feststellen, daß der Titer des betreffenden Serums ziemlich schwach war, und daß es einen Ueberschuß von gegen Schafblut gerichtetem Ambozeptor enthielt. Der Globulingehalt dieser Sera war in der Mehrzahl der Fälle abnorm hoch, immerhin ließ sich ein der Stärke der Wassermannschen Reaktion parallel laufendes Ansteigen oder Fallen der Globulinfraktion der betreffenden Sera nicht feststellen. In 27 Fällen latenter Syphilis, die meist intermittierend regelrecht behandelt wurden, waren positive Reaktionen selten, und auch diese meist nur schwach. Gewöhnlich war in den positiv reagierenden Fällen dieser Kategorie der Globulingehalt der Sera abnorm hoch, in negativ reagierenden aber geringer. Einige wenige Sera zeigten jedoch trotz negativer Wassermannscher Reaktion einen hohen Globulingehalt. 5 Fälle von Syphilis hereditaria und 4 Fälle von cerebrospinaler Syphilis gaben positive Reaktion mit beiden Methoden, doch fielen die Reaktionen nach meiner Methode etwas stärker aus. Kein die Reaktion störender Betrag von natürlichem, gegen Schafblut gerichtetem Ambozeptor war im Serum dieser syphilitischen Kinder zu verzeichnen. Der Globulingehalt des Serums war in diesen Fällen meist hoch. In 10 Fällen von Tabes und 5 Fällen von Dementia paralytica fand ich häufig positive Reaktionen, meist nicht sehr stark. Der Globulingehalt war in diesen Proben nicht sehr erhöht. In 11 Fällen von Syphilisverdacht und 4 als „Syphilophobie“ rubrizierten Fällen ergaben sich 8 positive Reaktionen mit deutlicher Globulinvermehrung. In weiteren 16 Fällen von Gonorrhoe war der Globulingehalt normal, nur in einem Falle von gonorrhöischer Gelenk-

entzündung ergab sich eine Erhöhung. Die Wassermannsche Reaktion (ausgeführt nach beiden Methoden) war gleichmäßig negativ. In 5 Fällen von meist chirurgischer Tuberkulose ergab sich eine Erhöhung des Globulingehaltes, während die Serumreaktion negativ war. In einem Falle von Hodgkinscher Krankheit schließlich war die Erhöhung des Globulingehaltes sehr deutlich, die Serumreaktion jedoch negativ. Bezüglich des Vorkommens natürlichen Antischafambozeptors in den verschiedenen Sera wird man sofort erkennen, wie unregelmäßig derselbe sich verteilt, und in wie regelloser Menge er in den verschiedenen Seris auftreten kann. Man muß demnach also doch mit dieser Tatsache rechnen.

Durch die oben mitgeteilte Vergleichsreihe quantitativer Werte des Globulingehaltes der Sera einerseits, der Wassermannschen Reaktion andererseits läßt sich zeigen, daß in Fällen von Syphilis und Tuberkulose der Globulingehalt ziemlich konstant erhöht ist. Weiterhin ist es von Interesse, die völlige Abwesenheit der lipotropen Substanz (Reagine) in den Fällen von Tuberkulose mit der nahezu konstanten Gegenwart derselben in den Fällen von Lues in Kontrast zu stellen. Schließlich erscheint es von Bedeutung, daß die Erhöhung des Globulingehaltes in den syphilitischen Sera unter erfolgreicher Behandlung mit Quecksilber oder Ehrlich-Hata 606 allmählich verschwindet.

In einer neuerlichen Veröffentlichung äußerten Wassermann und Meier die Ansicht, daß zwischen dem positiven Ausfall der Serumreaktion nach meiner Methode und der Erhöhung der Globulinfraction des Serums ein Parallelismus bestehe, der bei der Originalmethode nicht in Betracht käme, daher ihre Warnung, daß meine Modifikation nicht verläßlich sei. Diese Behauptung blieb jedoch ohne exakte experimentelle Begründung, und man kann sich meines Erachtens leicht überzeugen, wie irrig diese Annahme ist. Es mag wohl am Platze sein, zu erwähnen, daß sich meine Methode auf genau dasselbe Prinzip stützt wie die Wassermannsche. Warum denn sollten die Resultate der einen mit der Erhöhung des Globulingehaltes in Parallele gestellt werden, die der anderen aber nicht? Etwa, weil ich aktives Serum verwende? Wäre dem so, dann müßten ja alle Modifikationen,

bei denen aktives Serum gebraucht wird, unter demselben Uebelstand leiden, besonders wenn sie sich unfraktionierten alkoholischen Extraktes bedienen. Weder Stern noch Hecht noch Flemming scheinen solche Ergebnisse bei ihren Versuchen zu haben. Wiederum will ich es klarstellen, daß in meiner Methode aktives oder inaktives Serum gebraucht werden kann, je nach Wahl des betreffenden Experimentators oder nach Sachlage der Versuchsanordnung.

Gerade während ich diesen Artikel schreibe, veröffentlicht Sleeswijk Notizen über, wie er sagt, meine Methode. Sleeswijk selbst erwähnt, daß seine Methodik mit der von mir seit der ersten Veröffentlichung meiner Methode empfohlenen Technik nicht identisch war. Seiner eigenen Erklärung zufolge war er über gewisse Verbesserungen, die von mir bald nach meiner ersten Publikation eingeführt waren, durchaus nicht informiert. Der Grund, weswegen seine Methode zu labil und überempfindlich war, liegt darin, daß der Betrag des Untersuchungsserums wenigstens 2,5 mal höher bemessen wurde, als ich dies je empfahl (0,05 ccm anstatt 0,02 ccm) und auch darin, daß sein Antigen gewisse Substanzen enthielt, die sehr wohl in Verbindung mit manchen aktiven Menschensera eine nicht-spezifische Komplementablenkung bewirken konnten. Ich verwende als Antigen ausschließlich den acetonunlöslichen Anteil der Gewebelipoide und fand das im Handel erhältliche Lecithin unzuverlässig. Auch riet ich an, alle Bestandteile des Plasmas von den Blutkörpern vor dem Gebrauch als Suspension zu entfernen. Die Standardaufschwemmung der Erythrocyten wurde schon Ende Februar 1909 auf 1 Proz. festgelegt und unverändert seither beibehalten.

Den Einfluß der Temperaturerhöhung auf den syphilitischen Antikörper habe ich im Februar 1909 ausführlich zu erforschen gesucht und meinen Ergebnissen entsprechend demnach als Regel aufgestellt, die 4-fache Menge des inaktivierten Serums, nämlich 0,08 ccm zu verwenden, weil der Antikörpergehalt durch das Inaktivieren reduziert wird. Sleeswijk wußte dies nicht. Ich habe diese Verbesserungen am 12. Juni 1909 vor der American Medical Association zugleich mit dem Ergebnisse der Untersuchungen von 1800 Fällen nach meiner und von 600 Fällen nach der Originalmethode berichtet.

Im Besitz der Kenntnis dieser Einzelheiten würde Sleeswijk nicht die Resultate erhalten haben, welche er an einer doch nur beschränkten Anzahl von ihm untersuchter Fälle erzielte.

Sleeswijk scheint zu denken, daß er gewisse Widersprüche in meinen verschiedenen Publikationen findet. Er ist ganz im Irrtum, und ich sehe mich veranlaßt, näher hierauf einzugehen. Erstlich und vor allem glaubte er, daß mein Artikel im Journal of Experimental Medicine im Februar 1909 erschien, während der deutsche und der französische Artikel im März desselben Jahres erschienen. Tatsächlich aber kam das Journal of Experimental Medicine No. 2 wie gewöhnlich im März, und nicht im

Februar, heraus (dies Journal erscheint alle 2 Monate). Das deutsche Manuskript enthielt die experimentellen Daten bis Dezember 1908 und wurde Anfang Januar 1909 nach Deutschland geschickt. Der amerikanische und französische Artikel (der letztere nur ein Resumé) enthielten fast 2 Monate mehr experimentelle Daten. Wie Sleeswijk sagt, besteht zwischen dem deutschen Artikel und den anderen beiden (letztere identisch) ein Unterschied bezüglich der Angaben der zur Reaktion verwendeten Menge Komplements und der Titer des Ambozeptors. Dies ist richtig. Ich habe früher (im deutschen Artikel) 0,05 ccm Komplement empfohlen, aber diese Menge auf 0,04 ccm reduziert, um die Reaktion noch mehr zu verschärfen. Bezüglich der Titer des Ambozeptors ist es nur natürlich, daß ich in den späteren Monaten ein stärkeres Serum darstellen konnte als im Beginn. So hatte das zuerst von mir dargestellte Immunserum einen Titer von 0,01 ccm, wie in dem deutschen Artikel angegeben, während die später erhaltenen Immunsera, wie in den anderen Artikeln erwähnt, durchschnittlich einen Titer von 0,001 hatten.

Man beachte auch, daß die Zahl der Fälle im amerikanischen größer ist (465) als in dem deutschen Artikel (283). Diese Unterschiede im Detail lassen erkennen, daß ich stetig weiter arbeitete, können aber wohl kaum dazu ausgenützt werden, um meiner Darstellung Ungenauigkeit vorzuwerfen. Sleeswijk meint, daß das Kaninchen sich zum Hervorbringen des Antimenschensblutambozeptors nicht eigne; ich habe darauf zu erwidern, daß nach 5 Injektionen gewaschener Menschenerythrocyten in der vorgeschriebenen Menge der Titer bis auf 0,001, ja zuweilen sogar noch höher hinaufgeht. Ein Kaninchen also, das uns ein Serum von diesem Titer gibt, liefert ca. 40 000 Einheiten Ambozeptors, d. h. genug, um 20 000 Reaktionen zu machen. Arbeitet man in einem Laboratorium, so ist es ziemlich einfach, 6 Tiere gleichzeitig zu immunisieren. Das von diesen 6 Tieren gewonnene Serum würde dann Material für 120 000 Reaktionen liefern. Genügt dies?

Seltsamerweise gibt Sleeswijk auch in seinem Artikel der Annahme Ausdruck, daß ich ungewaschene Erythrocyten als Injektionsmaterial zum Erzeugen des Ambozeptors verwendete. Woher diese Ansicht? Ich arbeitete lange genug an der Klärung serologischer Probleme, um diese abc-Technik, die selbst ein Schüler kennen mag, zu beherrschen.

Sleeswijk scheint ferner die Meinung verbreiten zu wollen, daß Tschernogubow als erster der Verwendung menschlichen statt tierischen Blutes das Wort geredet hätte. Nun, er veröffentlichte seinen Artikel, ohne übrigens einen einzigen Fall als experimentellen Beleg aufzuführen, im Dezember 1908, ich aber habe meinen Bericht von 283 Fällen im Januar 1909 fortgeschickt. Wie schon anderweit erwähnt, sind die Methoden, die in beiden Artikeln besprochen und empfohlen werden, ganz verschieden. Es bedurfte nicht Tschernogubows Anregung, um mich auf die Bearbeitung dieser Fragen zu führen, tatsächlich war ich vielmehr im Begriffe, meine Publikation in den Druck zu geben, als ich seinen Artikel zuerst sah.

Hinsichtlich der Zubereitung des Ambozeptorpapiers hält Sleeswijk es für besser, einen 2 Einheiten des Ambozeptors enthaltenden Tropfen in

ein viereckiges Stück Filtrierpapier eintrocknen zu lassen, als der von mir angegebenen Methode zu folgen, ein größeres Stück Papier mit dem Ambozeptorserum zu imprägnieren und dies hernach in Bänder von bestimmtem Durchmesser zu schneiden. Meines Erachtens aber ist dies nicht rätlich, weil im Falle einer allmählichen Verschlechterung des Ambozeptors man die Länge des Papiers nicht genau auf die Dosis von 2 Einheiten bemessen kann, schon deswegen nicht, weil es sehr schwierig wäre, diese kleinen voneinander getrennten Papierstücke zu solchem Zweck zu handhaben. Hat man andererseits, wie ich dies tue, ein Stück guten trockenen Filtrierpapiers von 1 cm Ausdehnung, das allseitig gleichmäßig mit dem Ambozeptorserum getränkt ist, in enge Streifen von gleichmäßiger Breite (ich ziehe 5 mm Breite vor) geschnitten, dann ist es leicht, die Länge der zu verwendenden Stücke nach vorheriger Titration neu zu normieren. Selbstverständlich lege ich beim Durchtränken des Filtrierpapier mit dem Ambozeptorserum besonderen Wert darauf, daß sich das Papier vollständig mit dem Serum sättigt, und daß dies an allen Stellen desselben ganz gleichmäßig geschieht. Die einzige Variation, die bei dieser Technik etwa in Frage käme, wäre die der Dicke des Papiers, und diese kommt erfahrungsgemäß nicht in Betracht, da die Differenzen viel zu geringfügig sind. Wenn Sleeswijk meint, daß es wichtig sei, in jedem Röhrchen die ganz exakte Menge von Ambozeptor zu haben, und diesen Punkt noch extra betont, weshalb spricht er dann so leichthin von dem natürlichen Anti-Schafblutambozeptor, dessen Betrag in einigen Proben gar auf 20 Einheiten ansteigen kann? Die Differenz der Mengen zur Serumreaktion verwendeten Ambozeptors, welche sich aus dem Gebrauch des Ambozeptorpapiers ergeben, kann in meinem System nie mehr als einen Bruchteil einer Einheit betragen. Man erinnere sich hier, daß ich jedesmal 2 Einheiten in die Reaktion einführe, womit diese Differenz bezüglich des Ausfalls der Reaktion praktisch illusorisch wird.

Bezüglich des endgültigen Ablesens des Reaktionsausfalles erhebt Sleeswijk den Einwurf, daß ich sogar schwache zweifelhafte Reaktionen als positive ansehe, daher ein höherer Prozentsatz positiver Reaktionen zugunsten meines Systems. Wie wenig dieser Einspruch mit den Tatsachen harmoniert, kann man aus einer Stelle aus Seite 61 meiner Monographie ersehen, welche ich hier wörtlich zitieren will: „Weder die schwach positive, noch die zweifelhafte Reaktion sollte für die Diagnose „Syphilis“ verwertet werden, ohne daß sehr kräftige Gründe des klinischen Bildes mitsprechen.“ — Es wäre zwecklos, Sleeswijks Ergebnisse ernsthaft zu diskutieren, da seine Technik von der meinen so beträchtlich abweicht. Immerhin erscheint es rätlich, den Leser mit einigen wenigen Worten daran zu erinnern, ein wie hoher Prozentsatz positiver Reaktionen auch in nicht syphilitischen Krankheiten von zahlreichen Forschern erhalten wurde, die sich der ursprünglichen Wassermannschen Originalanordnung bedienten, in Fällen von Scharlach, Carcinom, Tuberkulose, Pneumonie, Diabetes, Malaria usw. Resultate, wie die eben angedeuteten, wurden von kompetenten Bakteriologen und Pathologen erhalten (Much-Eichelberg, Halberstädter, Müller, Reiche, Volk, Ranzi, Weil-Braun, Löhlein, Elias,

Neubauer, Porges, Salomon. Foà, Koch usw.); ganz gewöhnlich ist dies der Fall bei gewissen Formen von Lepra und bei *Framboesia tropica*. Keineswegs jedoch hat dies dazu beigetragen, die ursprüngliche Methode in Mißkredit zu bringen oder sie gar aufzugeben, man lernte eben mit der Zeit, sich mit dieser Schwierigkeit abzufinden. Sollte da nun Sleeswijk das Recht haben, meine Modifikation in Mißkredit zu bringen, bloß weil er deshalb nicht mit ihr fertig wurde, weil er eine falsche Technik in einigen wenigen Durchschnittsfällen anwendete? Was will er denn dann mit den tadellosen Ergebnissen anderer Forscher auf serologischem Gebiete, die sich meiner Methode bedienten, anfangen, die sich auf ca. 20 000 Fälle erstrecken? Höchstwahrscheinlich wird er selbst nicht imstande sein, seine Ergebnisse zu bestätigen, wenn er eine andere Reihe von Versuchen mit korrekter Technik anstellt.

Bezüglich des Punktes der Vereinfachung der Technik könnte man sagen, daß meine Methode auch nicht einfacher sei, als die Originalmethode. Hier mögen einige Worte zur Vergleichung beider Methoden am Platze sein. Meine Methode benötigt nicht die Organe eines syphilitischen Fötus, man braucht sich kein Hammelblut zu verschaffen, man braucht nicht die Sera zu inaktivieren, wenn das Serum innerhalb einiger Tage nach Entnahme untersucht wird. Die Reagentien, Ambozeptor und Antigen, können im getrockneten Zustand verwendet werden, auf diese Art können Gefahren der Verunreinigung von außen, die den flüssigen Präparaten anhaften, vermieden werden, letztere zudem beständig auf Eis aufbewahrt werden. Das Antigen (aceton-unlöslicher Anteil der Gewebslipide) kann auch als eine 3-proz. Stammlösung in Methylalkohol dauernd aufbewahrt werden. Von dieser alkoholischen Stammlösung nimmt man jedesmal nach Bedarf und fertigt eine Emulsion zum unmittelbaren Gebrauch durch Vermischen mit Kochsalzlösung in Verhältnis von 1 Volum der Antigenstammlösung zu 9 Volumen der Salzlösung an. Der Betrag des zur Untersuchung nötigen Patientenserums ist viel geringer als der in der Originalmethode verwendete. Man kann den Patienten beliebig oft untersuchen, ohne ihm viel Unbequemlichkeiten zu verursachen. Schwierigkeiten, genügende Mengen Blutes von Kindern oder fetten Leuten zu erhalten, kommen nicht in Betracht. Die Anzahl der nötigen Kontrollen reduziert sich auf ungefähr die Hälfte, da die Normal-Extraktkontrollen in Fortfall kommen, und dennoch ist, um alle die erwähnten Vereinfachungen zu erzielen,

keinerlei Einbuße an Schärfe und Verlässlichkeit des Reaktionsausschlages eingetreten.

Last not least will ich die Entstellung meiner Ansichten darüber berichtigen, wem denn die Ausführung der Reaktion mit Fug und Recht überlassen bleiben soll. Niemals sagte ich, daß ohne Einschränkung jeder Arzt sie ausführen könne. Ganz im Gegenteil habe ich meine Methode für regelrechte Laboratorienarbeiter oder solche Aerzte, die in klinischen Anstalten tätig sind, beschrieben und erhob dabei den Anspruch, daß beide allererst mit der Ausführung der Reaktion sich genügend bekannt machen, bevor sie in Hinsicht der Serodiagnostik der Syphilis irgendwelche Verantwortlichkeiten übernehmen. Es mag hier erwähnt sein, daß es durchaus nicht die Methode selbst ist, welche nicht genügend sorgfältige und also unerwünschte Arbeiter veranlaßt, sich der Serodiagnostik zu widmen. Im Gegenteil, je einfacher eine Methode ist, um so weniger Schutz gewährt sie solchen Arbeitern, die dann eine Methode vorziehen, welche dem Durchschnittsarbeiter fast undurchdringlich scheint. Für diese bedeuten die wissenschaftlichen Verdienste einer Methode ja nur wenig. So würde denn diese hochwichtige Seradiagnostik von einem kleinern Kreise von Arbeitern monopolisiert werden, von denen ein jeder seine spezielle Ausbildung und Kompetenz auf diesem engen Gebiete proklamieren möchte und dabei andere mit unwissenschaftlichem und flachem Kritizismus verurteilen will. Zum Glück steht diesen immer eine andere Partei neutraler und vorurteilsloser Arbeiter gegenüber, die Willens sind, eine Methode nach Tatsachen und nicht nach Sentiment zu bewerten.

Zusammenfassung.

Es werden die Prinzipien erörtert, welche für die vom Verfasser ausgearbeitete Modifikation der Wassermannschen Reaktion maßgebend sind. Als Antigen dient der acetonunlösliche Teil der Gewebslipide, als Blutkörperchen Menschenblut, als Ambozeptor entsprechendes Immunsrum vom Kaninchen, als Komplement Meerschweinchen Serum. An der Hand experimenteller Erfahrungen und kritischer Er-

wägungen werden die Vorzüge des Verfahrens dargetan und die Einwände, welche dagegen, insbesondere in Bezug auf die Möglichkeit des Auftretens einer Komplementbindung durch das Zusammenwirken von Menschenserum und entsprechendem Antikörper erhoben wurden, zurückgewiesen.

Literatur.

- Citron, Handb. der Technik u. Meth. d. Immunitätsf. (von Kraus und Levaditi), Bd. II, p. 1076—1135.
- Browning and McKenzie, Zeitschr. f. Immunitätsf., Vol. 2, p. 459—468.
- Journ. of Path. and Bact., Vol. 13, 1909, p. 325.
- Hecht, Wien. klin. Wochenschr., 1908, p. 1742—1743.
- Wien. klin. Wochenschr., 1909, p. 265—269.
- Lange, Deutsche med. Wochenschr., 1910, p. 217—219.
- Sachs, Semaine méd., 1908, p. 301—303.
- Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 699—700.
- Sachs und Rondoni, Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 1968—1971.
- Tschernogubow, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 47, p. 2107—2108.
- Wassermann und Meier, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 24.
- Sleeswijk, Deutsche med. Wochenschr. 1910, p. 1213.
- Zeissler, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 44, p. 1968—1972.
- II. Mitt. Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 21, p. 968.
- Noguchi, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910, p. 353.
- Münch. med. Wochenschr., 1910, p. 1399.
- Interstate Med. Journal, Vol. 18, p. 11.
- Noguchi und Bronfenbrenner, Journal of Exper. med., Vol. 13, p. 92.
- — Journal of Exper. Med., Vol. 13, 1911, p. 43.
- — Journal of Exper. Med., Vol. 13, 1911, p. 69.
- — Journal of Exper. Med., Vol. 13, 1911.
- Kaliski, David J., Archives of Internal Medicine, Vol. 6, 1910, p. 205.
- Boas, Die Wassermannsche Reaktion. Berlin (Karger), 1911.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

**Ueber die Wirkung des arteigenen fötalen Serums auf
normale und trächtige Meerschweinchen und über die
Toxizität des Serums im Puerperium.**

Von Dr. E. Gräfenberg und Dr. J. Thies, Berlin.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1911.)

I.

Zwischen dem Blut von Mutter und Kind bestehen tiefgreifende Unterschiede, die sowohl bei der Untersuchung des Blutplasmas wie seiner zelligen Elemente in Erscheinung treten. Naturgemäß sind zuerst die qualitativen und quantitativen Schwankungen des Blutbildes, soweit die morphologischen Elemente in Frage kommen, eingehend beim Menschen studiert worden. Anders verhält es sich mit der Blutflüssigkeit, über deren Beschaffenheit bis jetzt unsere biologisch-chemischen Methoden nur ungenügend Aufschluß geben. So haben Lockemann und Thies¹⁾ in einer größeren Serie von Versuchen beim Kaninchen festgestellt, daß weitgehende Differenzen in dem Verhalten des Blutserums der Föten und des Muttertieres bestehen. Durch die intravenöse Injektion kleiner Mengen von fötalem Serum und Blut (schon durch 0,0005 Proz.) kann bei großen ausgewachsenen Kaninchen eine echte Anaphylaxie gegen das fötale Eiweiß erzielt werden, so daß die Tiere bei der nach 8 Tagen wiederholten Injektion einer gleich großen Menge ganz akut unter Krämpfen und Lähmungen zugrunde gehen. Dagegen treten bei trächtigen Kaninchen diese Symptome in der Regel schon bei der ersten Injektion auf. Es besteht also bei dem trächtigen Kaninchen normalerweise eine erhöhte Empfindlichkeit gegen das fötale

1) Lockemann und Thies, Biochem. Zeitschr., Bd. 25, 1910.

Serum. Es ist denkbar, daß in der Schwangerschaft wenig abgebaute oder unveränderte fötale Eiweißkomplexe auf den mütterlichen Organismus übergehen und die Mutter sensibilisieren (Lockemann und Thies) oder daß überhaupt erhöhte Empfindlichkeit des schwangeren Organismus gegenüber Eiweiß besteht [Fromme¹⁾].

Um diese Resultate besser zu begründen, wurden die am Kaninchen ausgeführten Versuche in analoger Form am Meerschweinchen wiederholt, an dem ja bekanntlich die Anaphylaxieversuche besonders leicht gelingen.

Die Technik war dieselbe wie bei den Versuchen an Kaninchen. Das Blut der durch Laparotomie entnommenen Föten wurde steril aufgefangen, zentrifugiert und dann das klare Serum verwandt. Es wurde in die freigelegte Vena jugularis des Meerschweinchens injiziert. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Trächtigen Meerschweinchen wurde nach Entfernung der Föten deren Serum injiziert. Trotzdem nur relativ geringe Mengen zur Injektion verwandt wurden, waren die Erscheinungen sehr intensiv. Sämtliche Tiere gingen entweder akut oder in den folgenden 15 Stunden unter Krämpfen zugrunde. Das Bild der Erkrankung entsprach in seinem Symptomenkomplex dem der Anaphylaxie. In darauf untersuchten Fällen zeigte sich der pathologische Befund wie er für Anaphylaxie charakteristisch ist; es fanden sich die bei dem Anaphylaxietode typischen Veränderungen (Lungenblähung und Blutungen). Es entfaltet also auch beim Meerschweinchen ebenso wie beim Kaninchen das artgleiche fötale Serum eine toxische Wirkung. Die sofort wirkende toxische Dosis ist eine sehr niedrige, allerdings übertrifft sie etwas die beim Kaninchen verwandten Dosen²⁾. Es ist demnach das Meerschweinchen gegen das fötale Serum weniger empfindlich als das Kaninchen. Immerhin sind die injizierten Mengen relativ klein und gehen weit herunter unter jene relativen Werte,

1) Verhandl. der Gesellsch. d. Charitéärzte, 1911.

2) Versuche der letzten Zeit haben uns davon überzeugt, daß das Kaninchen auch auf die Injektion seines eigenen Hodens stärkere Erscheinungen zeigt als das Meerschweinchen.

Tabelle I.
Trächtige Meerschweinchen. Injektionen von fötalem Serum.

Prot.- No.	Geschlecht	trächtig	Ge- wicht g	Serum	Menge ccm	pro kg Ge- wicht	Injektion	Erscheinungen				Exitus nach	Sektion
								keine	leichte	schwere	Krämpfe und so- fortiger Exitus		
13	w.	trächtig	650	von eigenen Föten	0,6	0,88	intravenös	munter				† 15 ^b	Lungenblähung
3	w.	"	680	dgl.	2,0	2,9	" die Injektion wird erst 24 ^b nach der Entnahme der Föten gemacht			Krämpfe, Lähmun- gen	sofort †		
4	w.	"	680	"	2,0	2,9	intravenös		matt, sträubt Haare			† 4 ^b	
14	w.	"	670	"	2,0	2,9	"			Sprünge, Krämpfe		† 15 ^b	
15	w.	"	680	"	2,0	2,9	"	munter				† 15 ^b	Lungenblähung
66	w.	"	670	"	2,0	2,9	"			Sprünge, Krämpfe, Lähmun- gen		† 15 ^b	Lungenblähung

die beim nichtträchtigen Tier symptomlos vertragen werden. Das zeigt, daß auch das Meerschweinchen durch die Schwangerschaft an sich eine erhöhte Empfindlichkeit bekommt.

Eine Uebersicht über die Versuche an nicht trächtigen Tieren gibt Tabelle II.

Tabelle II.

Nicht trächtige Meerschweinchen. Injektion von fötalem Serum.

Prot.-No.	Geschlecht	trächtig	Gewicht g	Serum	Menge ccm	pro kg Gewicht	In- jektion	Erscheinungen				Sektion
								keine	leichte	schwere	Krämpfe u. Exitus	
70	w.	—	290	fremd. S.	1,25	4,3	intra- venös		Sprünge, dann munter			
69	m.	—	320	dgl.	1,5	4,6	dgl.	munter				
67	w.	—	570	„	3,0	5,3	„			Krämpfe	†	Lungenblähung. Es war Gravi- dität angenom- men, doch bei d. Sektion nicht makroskopisch nachweisbar
8	w.	—	230	„	2,0	8,0	„					
6	w.	—	220	„	2,0	9,0	„		matt sträubt Haare			

Trotzdem einzelnen Tieren selbst das Vierfache der bei den trächtigen Tieren injizierten relativen Menge gegeben wurde, gelang es nicht, akute schwere Erscheinungen auszulösen. Nur ein einziges Tier ging nach der Injektion von 5,3 Prom. akut zugrunde. Dieses war für gravid gehalten, doch ließ sich bei der Sektion der Nachweis — wenigstens makroskopisch — nicht erbringen; es ist nicht ausgeschlossen, daß eine beginnende Schwangerschaft vorlag oder das Tier kurz vorher geworfen hat, zumal es stets mit männlichen zusammengesessen hatte.

Demnach ist folgendes festzustellen:

- 1) Das artgleiche fötale Serum kann giftig wirken.
- 2) Es wirkt besonders stark auf trächtige Tiere.

Die Differenz in der tödlichen Wirkung des fötalen Serums auf trächtige und nichtträchtige Tiere ist so erheblich, daß Fehlerquellen bei der Berechnung der relativen Injektions-

mengen nicht in Betracht kommen können, auch wenn wir bedenken, daß bei den für die trächtigen Tiere ausgerechneten Werten das Gewicht der Föten und Placenten nicht in Abzug gebracht worden ist. Dieser Abzug ist so gering, daß er keinen Einfluß auf das Endresultat hat.

II.

Wir prüften nun weiter die Frage, ob die Ueberempfindlichkeit der trächtigen Tiere gegen das arteigene fötale Serum eine Veränderung des mütterlichen Serums in seiner Toxizität für Meerschweinchen hervorruft.

Es läßt sich bei solchen Versuchen nun während der Gravidität keine Veränderung der Toxizität des mütterlichen Kaninchenserums bei der intravenösen Injektion von Meerschweinchen feststellen. Wir finden Toxizitätsgrenzen des Kaninchenserums, die auch außerhalb der Schwangerschaft beobachtet werden. Das Serum eines etwa 10 Tage trächtigen Kaninchens (No. 103) war sogar weit weniger toxisch als das Serum nicht gravider Tiere, denn selbst 35,0 ccm Kaninchenserum pro 1000 g Meerschweinchen konnten ein normales Meerschweinchen nicht töten.

Die Serumgiftigkeit der trächtigen Kaninchen ändert sich aber, sobald das Tier geworfen hat. Schon bald nach dem Partus wird das Kaninchenserum giftiger.

So fiel uns bei einem Kaninchen, bei dem wir die Giftigkeit des Serums für normale Meerschweinchen prüften, eine abnorme Toxizität auf (Tabelle III). Dieses Tier hatte kurz zuvor geboren. Es schien das für eine Zunahme der Giftigkeit im Anschluß an die Geburt zu sprechen.

Tabelle III.

Serumtoxizität eines 36 Stunden zuvor entbundenen Kaninchens.

Meerschweinchen No.	Geschlecht	Gewicht g	Kaninchenserummengemenge ccm	pro kg Gewicht	Erfolg
447	männlich	210	3,1	15,0	†
448	„	180	2,3	13,0	†
449	„	180	1,8	10,0	†
450	„	190	1,5	8,0	Krämpfe

Da aber die absoluten Werte bei den einzelnen Kaninchen eine gewisse Differenz zeigen können, so ist der Vergleich der Zahlen nur dann möglich, wenn das Serum des gleichen Tieres zu verschiedenen Zeiten während und nach der Gravidität geprüft werden kann. Denn nur die Schwankungen der relativen Giftigkeit nach dem Partus geben uns sicheren Aufschluß.

Am besten prüft man vor und nach dem Partus in kurzen Intervallen. So konnten wir bei dem Kaninchen 139 (Tabelle IV) während der letzten 11 Tage der Schwangerschaft eine konstante Giftigkeit des Serums von 15,0 pro 1000 g Meerschweinchen nachweisen.

Meerschweinchen No. 488, männlich, 170 g.

15. XII. 10. 11²⁶ Injektion von 2,6 Serum des trächtigen Kaninchens 139 intravenös = 15 Prom.; sofort nach Injektion Sprünge; Schwäche der hinteren Extremitäten; Lufthunger.

11²⁷ Heftige Krämpfe in Seitenlage mit unregelmäßiger dyspnoischer Atmung.

11²⁸ Cornealreflex geschwunden; Atemstillstand.

Sektion: Starke Lungenblähung mit punktförmigen Petechien auf Pleura visceralis. Herztätigkeit kräftig und regelmäßig.

Meerschweinchen, denen weniger als 15,0 Prom. Kaninchenserum 139 (Tabelle IV) eingespritzt war, erschienen zwar deutlich schwerkrank, sie konnten ihre Hinterbeine nicht ordentlich gebrauchen, hatten Sprungkrämpfe, ließen Urin und saßen mit gestäubtem Fell zitternd in einer Ecke, aber blieben am Leben. Erst als das Kaninchen am 26. XII. vier ausgetragene Junge geworfen hatte, die bald starben, änderte sich die Giftigkeit des Serums. Wir konnten erst 3 Tage nach dem Partus die Giftigkeit des Kaninchenserums prüfen und fanden jetzt, daß die Meerschweinchen schon akut unter Krämpfen starben, wenn sie 10,0 pro kg Körpergewicht injiziert erhielten. Dieser Giftigkeitswert hielt sich noch längere Zeit unverändert. Bei einem Versuch am 18. Tage post partum hatte die Giftigkeit des Kaninchenserums abermals zugenommen. Jetzt gingen die Meerschweinchen schon akut zugrunde, wenn ihnen 8,0 Prom. Kaninchenserum eingespritzt wurde (Tabelle IV).

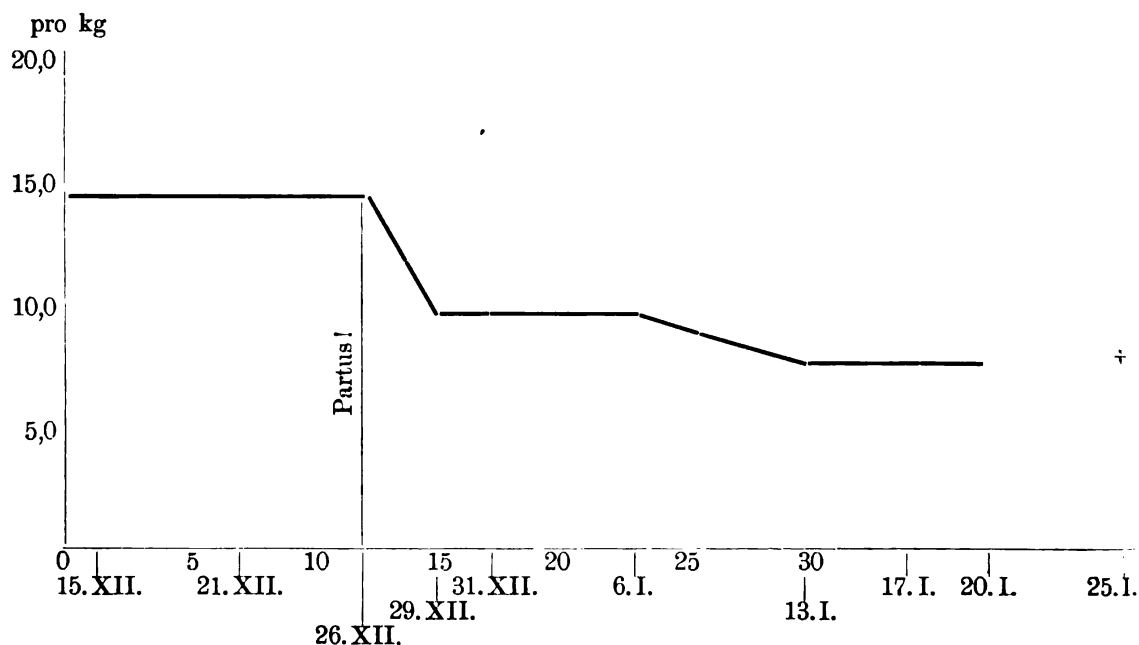
Tabelle IV.

Serum eines trächtigen Kaninchens No. 139 intravenös Meerschweinchen injiziert.
Geburt am 26. XII. 1910.

Meerschw. No.	Ge- schlecht	Gewicht g	Kaninchen- Serummenge ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
1. Versuch am 15. XII. 1910.						
488	männlich	170	2,6	15,0	+ 2 Min.	} 10,0—15,0
490	„	200	2,0	10,0	—	
489	„	220	1,5	7,0	—	
2. Versuch am 21. XII. 1910.						
514	männlich	200	3,2	16,0	+ 2 Min.	} 14,0—16,0
515	„	200	2,8	14,0	—	
Partus am 26. XII. 1910.						
3. Versuch am 29. XII. 1910.						
526	männlich	180	2,7	15,0	+ 2 Min.	} 7,0—10,0
528	„	180	1,8	10,0	+ 2 „	
527	„	180	1,3	7,0	Krämpfe	
4. Versuch am 31. XII. 1910.						
531	männlich	180	1,8	10,0	+ 2 Min.	} 8,0—10,0
533	„	200	1,6	8,0	Krämpfe	
532	„	160	1,0	6,0	—	
5. Versuch am 6. I. 1911.						
537 a	männlich	190	1,9	10,0	+ 4 Min.	} 8,0—10,0
538	„	190	1,5	8,0	Krämpfe	
6. Versuch am 13. I. 1911.						
549	männlich	195	1,9	10,0	+ 3 Min.	} 7,0—8,0
550	„	230	1,8	8,0	+ 2 „	
559	„	200	1,4	7,0	Krämpfe	
551	„	200	1,2	6,0	—	
7. Versuch am 17. I. 1911.						
560	männlich	190	1,5	8,0	+ 3 Min.	} 6,0—8,0
561	„	170	1,0	6,0	Krämpfe	
8. Versuch am 20. I. 1911.						
567	männlich	190	1,5	8,0	+ 3 Min.	} 7,0—8,0
566	„	190	1,3	7,0	—	

25. I. Tier †.

Das Verhalten der Toxizität dieses Kaninchenserums ist auf Kurve 1 dargestellt. Auf der Abszisse sind die Tage, auf der Ordinate die tödlichen Serumdosen pro 1000 g Meerschweinchen aufgezeichnet. Mit der Geburt fällt die Kurve um 5,0 pro kg. Wie die absteigende Kurve lehrt, nimmt die Toxizität des Kaninchenserums auch weiterhin im Puerperium noch zu.



Kurve 1. Serumtoxizität eines trächtigen Kaninchens (139) für Meerschweinchen.

Analoge Veränderungen in der Giftigkeit des Kaninchenserums nach der Geburt konnten wir bei einem anderen Kaninchen (141) beobachten (Tabelle V). Der Toxizitätstiter des Kaninchenserums während der Schwangerschaft des Tieres ist hier bereits einen Tag später sehr stark verändert. Ebenso wie bei dem Kaninchen 139 genügten jetzt vom Kaninchen 141 5,0 ccm Serum pro kg weniger als während der Trächtigkeit, um die normalen Meerschweinchen akut zu töten. Im weiteren Verlauf nahm die Toxizität des Serums noch mehr zu, am 4. Tage post partum

Tabelle V.

Serum eines trächtigen Kaninchens No. 141 intravenös Meerschweinchen injiziert.
Partus am 9. I. 1911.

Meerschw. No.	Ge- schlecht	Gewicht g	Kaninchen- serummeng ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
------------------	-----------------	--------------	--------------------------------	-------------------	--------	-----------------------------------

1. Versuch am 31. XII. 1910.

537	männlich	170	3,4	20,0	+ 5 Min.	} 17,0—20,0
535	„	200	3,4	17,0	Krämpfe	

2. Versuch am 6. I. 1911.

543	männlich	190	3,8	20,0	+ 2 Min.	} 17,0—20,0
541	„	180	3,1	17,0	Krämpfe	

Partus am 9. I. 1911.

3. Versuch am 10. I. 1911.

546	männlich	200	3,0	15,0	+ 2 Min.	} 12,0—15,0
545	„	200	2,4	12,0	Krämpfe	
544	„	190	1,9	10,0	„	

4. Versuch am 13. I. 1911.

554	männlich	170	2,2	13,0	+ 3 Min.	} 11,0—13,0
556	„	210	2,3	11,0	—	
553	„	180	1,8	10,0	—	

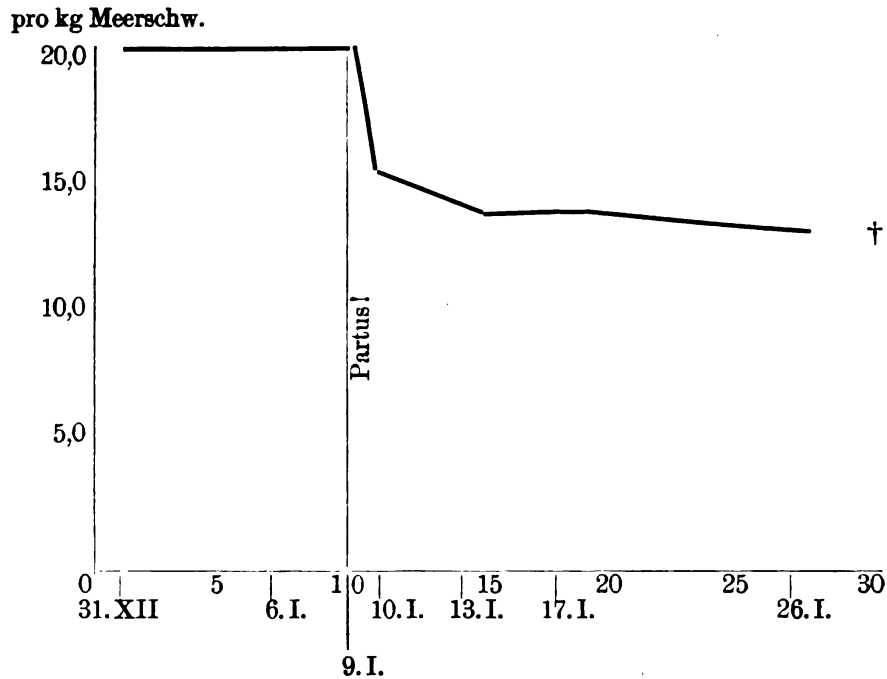
5. Versuch am 17. I. 1911.

563	männlich	170	2,2	13,0	+ 2 Min.	} 10,0—13,0
564	„	170	1,7	10,0	Krämpfe	

6. Versuch am 26. I. 1911.

576	männlich	180	2,5	14,0	+ 3 Min.	} 12,0—14,0
577	„	170	2,0	12,0	—	

war das Kaninchenserum fast doppelt so giftig wie vor der Geburt. Die beigelegte Kurve veranschaulicht die Toxizitätsschwankungen des Kaninchenserums 141 (Kurve 2).



Kurve 2. Serumtoxizität eines Kaninchens während und nach der Gravidität (K. 141).

In diesen beiden Fällen erfolgte die Veränderung des Kaninchenserums, ohne daß die Tiere durch das Stillgeschäft beeinflußt wurden. Die zwar ausgetragenen Jungen waren unmittelbar nach der Geburt wieder eingegangen.

Die erhöhte Giftigkeit des mütterlichen Serums nach der Niederkunft ließ sich auch bei weiteren Kaninchen feststellen. In einzelnen Fällen wurden wir erst durch die starke Giftigkeit des Kaninchenserums auf eine vorausgegangene Gravidität aufmerksam.

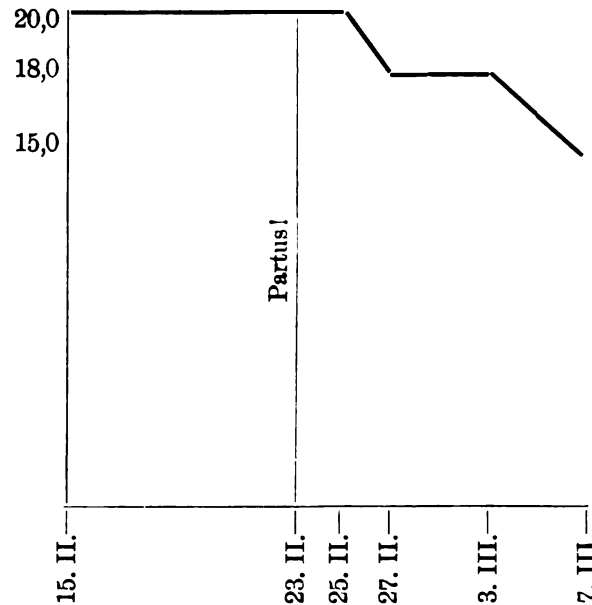
Bei dem Kaninchen 144 (Tabelle VI bezw. Kurve 3) steigt die Giftigkeit nach der Geburt um 5,0 pro kg Meerschweinchen.

Tabelle VI.

Serumgiftigkeit eines trächtigen Kaninchens No. 144 für Meerschweinchen.

Datum	Meerschw. No.	Ge- schlecht	Ge- wicht g	Kaninchen- serummenge ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
15. II.	635	männlich	180	3,6	20,0	† 5 Min.	} 20,0
	634	„	170	3,1	18,0	—	
Partus 23./24. II. 1911.							
25. II.	663	männlich	180	3,6	20,0	† 5 Min.	} 20,0
	662	„	160	2,9	18,0	—	
27. II.	667	„	150	2,7	18,0	† 3 Min.	} 18,0
	668	„	180	2,7	15,0	—	
3. III.	679	„	140	2,5	18,0	† 2 Min.	> 18,0
7. III.	685	„	180	2,7	15,0	† 4 Min.	} 15,0
	686	„	150	1,7	12,0	—	

pro kg Meerschw.



Kurve 3. Serumtoxizität eines Kaninchens (144) während und nach der Gravidität.

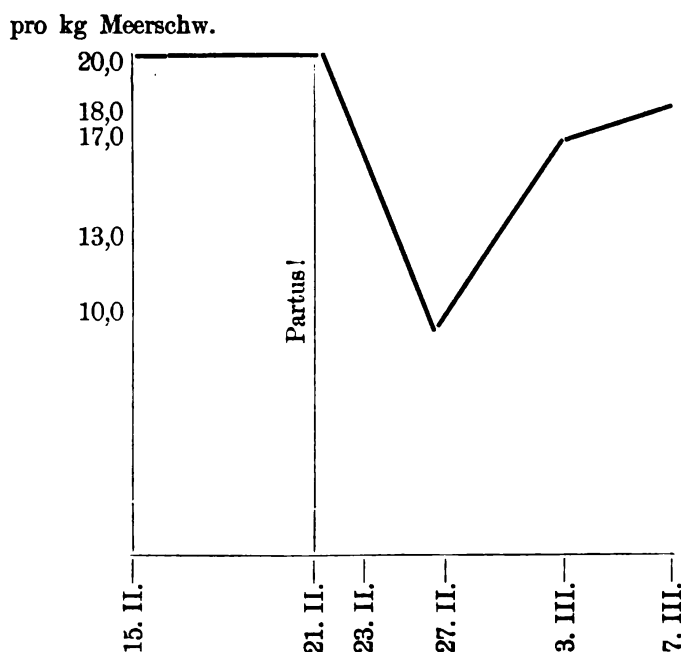
Ebenso folgt bei dem Kaninchen 145 (Tabelle VII und Kurve 4) dem Wurf schnell eine erhebliche Erhöhung der Toxizität, die nach 12 Tagen auf das Doppelte des Ausgangs-

wertes gestiegen ist. Dieser Zunahme der Toxizität folgt bald wieder ein Rückgang der Giftigkeitskurve.

Tabelle VII.

Serumgiftigkeit eines Kaninchens No. 145 vor und nach dem Wurf.

Datum	Meerschw. No.	Ge- schlecht	Ge- wicht g	Kaninchen- serummeng ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
15. II.	637	männlich	150	3,0	20,0	† 3 Min.	} 20,0
	636	„	200	3,6	18,0	—	
Partus 21./22. II. 1911.							
23. II.	660	männlich	170	2,2	13,0	† 6 Min.	} 13,0
	659	„	170	1,7	10,0	—	
27. II.	671	„	190	1,9	10,0	† 2 Min.	} 10,0
	672	„	200	1,4	7,0	—	
3. III.	683	weiblich	150	2,2	15,0	—	> 15,0
7. III.	674	männlich	180	3,2	18,0	† 3 Min.	} 18,0
	675	„	150	2,3	15,0	„	



Kurve 4. Serumtoxizität eines Kaninchens (145) während und nach der Gravidität.

Nur geringfügig, wenn auch deutlich, ist die Zunahme der Giftigkeit des Kaninchenserums im Anschluß an die Geburt bei dem Tier 146.

Tabelle VIII.

Serumgiftigkeit eines Kaninchens No. 146 vor und nach dem Wurf.

Datum	Meersch. No.	Ge- schlecht	Ge- wicht g	Kaninchen- serummeng ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meersch.
25. II.	665	männlich	160	3,4	21,0	Krämpfe	21,0
Partus 26./27. II. 1911.							
3. III.	684	weiblich	190	3,5	18,0	+ 2 Min.	18,0
7. III.	688	männlich	140	2,5	18,0	+ 2 Min.	} 18,0
	687	„	140	2,4	17,0	—	

Auch bei einem trächtigen Hund konnten wir die identische Beobachtung machen. Die Toxizität seines Serums, die während der Schwangerschaft 8,0 ccm pro kg Meerschweinchen betrug, nahm bald nach der Geburt zu, so daß im Puerperium die Toxizitätsgrenze für Meerschweinchen statt bei 8,0 nur bei 6,0 ccm Hundeserum pro kg Meerschweinchen lag. Die Einzelheiten dieser längeren Versuchsreihe sind in der Tabelle IX nebeneinandergestellt.

Tabelle IX.

Giftigkeit des Serums eines Hundes vor und nach dem Wurf bei der Injektion von Meerschweinchen.

Datum	Meersch. No.	Ge- schlecht	Ge- wicht g	Hunde- serummeng ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meersch.
21. I.	574	männlich	180	1,6	9,0	+ 4 Min.	} 7,0—9,0
	573	„	180	1,3	7,0	—	
26. I.	579	„	180	1,4	8,0	+ 6 Min.	} 7,0—8,0
	580	„	180	1,3	7,0	—	
30. I.	Letzte Nacht 7 Junge geworfen!						Partus!
30. I.	584	männlich	170	1,4	8,0	+ 4 Min.	} 7,0—8,0
	583	„	160	1,1	7,0	—	
1. II.	586	„	160	1,1	7,0	+ 6 Min.	} 5,0—7,0
	587	„	150	0,8	5,0	—	
4. II.	603	„	170	1,0	6,0	+ 5 Min.	} 5,0—6,0
	604	„	180	0,8	5,0	—	
8. II.	618	„	170	1,0	6,0	+ 4 Min.	} 5,0—6,0
	619	„	170	0,9	5,0	—	
14. II.	631	„	200	1,2	6,0	+ 4 Min.	} 4,0—6,0
	632	„	200	0,8	4,0	—	

Es ist bemerkenswert, daß am gleichen Tage, als das Serum der Mutter schon in einer Menge von 6,0 pro kg Meerschweinchen akut tötete (Tabelle X), das Serum der jungen Hunde erst in einer Konzentration von 12,0 pro kg den akuten Tod der Meerschweinchen herbeiführte (Tabelle Xa). Diese Differenz in der Toxizität des mütterlichen und kindlichen Blutes entspricht einer anderen Veränderung, der das Blut der Mütter vor und nach dem Partus unterworfen ist. Auch der Antitrypsingehalt ist im mütterlichen Blut stets erheblich höher als im Blutserum des Kindes, häufig übertrifft der Antitrypsintiter der Mutter den des Kindes um das Doppelte [Gräfenberg¹⁾]. In ähnlicher Weise ändert sich die Giftigkeit des mütterlichen Serums. Während das Serum des Kindes für Meerschweinchen die gleiche Toxizität besitzt wie das Serum normaler Individuen, ist das Serum der Mutter nach dem Partus doppelt so giftig.

Tabelle X.

Giftigkeit des Serums der Hundemutter 5 Tage nach dem Wurf (4. II. 1911).

Meerschw. No.	Geschlecht	Gewicht g	Mütterliches Hundeserum ccm	pro kg Gewicht	Erfolg
603	männlich	170	1,0	6,0	† 5 Min.
604	„	180	0,8	5,0	—

Tabelle Xa.

Giftigkeit des Serums der jungen Hunde 5 Tage nach dem Wurf (4. II. 1911).

Meerschw. No.	Geschlecht	Gewicht g	Kindliches Hundeserum ccm	pro kg Gewicht	Erfolg
607	männlich	170	2,0	12,0	† 4 Min.
608	„	170	1,7	10,0	—
606	„	200	1,6	8,0	—

Unsere Beobachtungen am Serum des trächtigen Kaninchens und Hundes fanden auch am Serum des Menschen ihre Bestätigung. Das Serum der Schwangeren ist nach unseren Versuchen an Frauen der Charité-Frauenklinik (Prof.

1) Gräfenberg, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol., Bd. 65.

Franz) für Meerschweinchen ebenso giftig wie das des Menschen sonst. 5,0 ccm Menschenserum beiden Geschlechts pro kg Meerschweinchen wirken immer sofort tödlich. Dagegen nimmt nach der Geburt das Wöchnerinnen-serum deutlich an Giftigkeit zu. Auch hier haben wir wieder das Serum jeder Frau einer fortlaufenden Untersuchung unterzogen, die in Tabellenform beigelegt ist.

Tabelle XI.

Serumgiftigkeit bei einer Frau (Nettersheim) vor und nach der Entbindung.

Datum	Meersch. No.	Geschlecht	Gewicht g	Serummenge ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meersch.
18. III.	693	weibl.	150	1,1	7,0	+ 3 Min.	} 5,0
	692	"	160	0,8	5,0	+ 7 "	
	694	"	140	0,4	3,0	—	

Partus am 22. III.

23. III.	696	männl.	160	0,6	4,0	+ 8 Min.	} 4,0
	661	"	160	0,5	3,0	—	
	698	"	150	0,3	2,0	—	
25. III.	700	"	160	0,5	3,0	+ 5 Min.	} 3,0
	701	"	150	0,3	2,0	—	

Die Giftigkeit des Serums Nettersheim erfährt nach der Geburt eine Erhöhung von 5,0 auf 3,0 pro kg Meerschweinchen.

Tabelle XII.

Serumgiftigkeit bei einer Frau (Fitzner) vor und nach der Entbindung.

Datum	Meersch. No.	Geschlecht	Gewicht g	Serummenge pro Tier ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meersch.
18. III.	690	männl.	130	0,8	6,0	+ 1 Min.	} 5,0
	691	"	160	0,8	5,0	+ 9 "	
	689	"	130	0,5	4,0	—	

Partus 20. III. 1911.

23. III.	695	männl.	180	0,7	4,0	+ 6 Min.	} 4,0
	697	"	160	0,5	3,0	—	
25. III.	702	"	150	0,6	4,0	+ 8 Min.	} 4,0
	699	"	170	0,5	3,0	—	

Eine analoge Zunahme der Giftigkeit des mütterlichen Serums nach der Entbindung ließ sich immer wieder beobachten.

Tabelle XIII.

Serumgiftigkeit bei einer Frau (Glania) vor und nach der Entbindung.

Datum	Meer-schw. No.	Ge-schlecht	Ge-wicht g	Serummeng-e pro Tier ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
31. III.	709	männl.	150	0,9	6,0	† 4 Min.	} 6,0
	707	„	150	0,8	5,0	krank, lebt	

Partus 31. III. 1911.

4. IV.	717	männl.	180	0,7	4,0	† 9 Min.	} 4,0
	715	„	200	0,6	3,0	—	

Tabelle XIV.

Serumgiftigkeit bei einer Frau (Beese) vor und nach der Entbindung.

Datum	Meer-schw. No.	Ge-schlecht	Ge-wicht g	Serummeng-e pro Tier ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
31. III.	706	männl.	150	0,8	5,0	† 10 Min.	} 5,0
	703	„	170	0,8	4,0	—	

Partus am 31. III. 1911.

4. IV.	714	männl.	170	0,7	4,0	† 8 Min.	} 4,0
	716	„	200	0,6	3,0	—	

Tabelle XV.

Serumgiftigkeit bei einer Frau (Mielinski) vor und nach der Entbindung.

Datum	Meer-schw. No.	Ge-schlecht	Ge-wicht g	Serummeng-e pro Tier ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meerschw.
31. III.	704	männl.	170	0,9	5,0	† 4 Min.	} 5,0
	705	„	150	0,6	4,0	—	

Partus am 1. IV. 1911.

4. IV.	668	männl.	200	0,8	4,0	† 5 Min.	} 4,0
	667	„	200	0,6	3,0	—	

Stets ist die Giftigkeit des mütterlichen Serums für Meerschweinchen im Wochenbett eine höhere als

vor der Geburt. Diese Zunahme der Giftigkeit erfolgt immer erst allmählich, so daß das Wöchnerinnenserum am 7. Wochenbettstage deutlich toxischer ist als zu Beginn des Wochenbettes. In Tabelle XVI ist die Serumgiftigkeit einiger Wöchnerinnen am 7. Wochenbettstag zusammengestellt.

Tabelle XVI.

Serumgiftigkeit von Wöchnerinnen am 7. Wochenbettstag.

Wöchnerin	Meersch. No.	Ge- schlecht	Ge- wicht g	Serummenge pro Tier ccm	pro kg Gewicht	Erfolg	Giftigkeit pro kg Meersch.
Stolt	718	männl.	190	0,6	3,0	† 7 Min.	} 3,0
	721	„	250	0,5	2,0	—	
Ehlert	719	„	190	0,6	3,0	† 5 Min.	} 3,0
	720	„	210	0,4	2,0	—	
Freese	722	„	230	0,7	3,0	† 4 Min.	} 3,0
	723	„	250	0,5	2,0	—	
Arndt	724	„	240	0,7	3,0	† 6 Min.	} 2,0
	725	„	230	0,5	2,0	† 10 „	
	726	„	230	0,2	1,0	—	

Bei diesen Werten ist zu berücksichtigen, daß wir bei nicht entbundenen Frauen vielmals Werte unter 5,0 pro kg Tier gesehen haben.

Angesichts dieser Normalgiftigkeit ist eine Erhöhung der Toxizität des Wöchnerinnenserums auf 3,0 oder gar auf 2,0 pro kg Meerschweinchen eine nicht unerhebliche Veränderung.

Ueber eine weitere Zunahme der Serumgiftigkeit im Spätwochenbett fehlen uns die Erfahrungen, da die normalen Wöchnerinnen nicht lange genug in der Klinik zu bleiben pflegen.

Auch beim Menschen ist die Giftigkeit des mütterlichen und kindlichen Blutserums ganz verschieden stark. Bei der Geburt Glania (Tabelle XIII) war das mütterliche Serum in einer Menge von 6,0 pro kg Meerschweinchen sofort tödlich, während das gleichzeitig untersuchte Serum des Neugeborenen

(aus der Nabelschnur) erst in einer relativen Dosis von 12,0 pro kg Meerschweinchen tötete.

Alle unsere Beobachtungen stimmen darin überein, daß die Toxizität des Serums trächtiger Individuen nicht gegen die Norm erhöht ist, daß diese Giftigkeit aber sofort zunimmt, sobald die Geburt erfolgt ist. Das puerperale Serum kann doppelt so giftig werden wie zuvor.

Zu der gleichen Zeit, zu der das Serum der trächtigen Kaninchen noch nicht eine erhöhte Giftigkeit für nicht-trächtige Meerschweinchen zeigt, wirkt es für trächtige Meerschweinchen schon recht toxisch. Diese Wirkung kommt deutlich zur Geltung in einem Falle, wo das Serum eines trächtigen Kaninchens bei den nichtträchtigen Tieren erst in sehr großen Mengen leichte Vergiftungssymptome hervorrief (Tabelle XVII), dagegen für trächtige Meerschweinchen erheblich toxischer war.

Tabelle XVII.

Meerschweinchen mit Serum eines frühträchtigen Kaninchens (103) gespritzt.

Prot. No.	Geschlecht	Gewicht g	Serum-menge	pro kg Gewicht	Erfolg
394	männlich	200	2,0	10,0	—
395	„	220	4,4	20,0	—
400	weiblich	170	4,3	25,0	—
396	männlich	220	6,6	30,0	Krämpfe, lebt.
401	weiblich	160	5,6	35,0	„ „
402	trächtig	880	11,0	12,0	Krämpfe, † nach 48 Std. über Nacht Abort † Junge
639	trächtig	630	7,5	12,0	Krämpfe, abortiert, † nach 40 Std.

Selbst das Serum von trächtigen Meerschweinchen, also das artgleiche, hat für andere trächtige Meerschweinchen eine sehr toxische Wirkung (Tabelle XVIII). Nicht trächtige Meerschweinchen überstehen die Injektion erheblich größerer Mengen des gleichen Serums, ohne bedrohliche Erscheinungen zu zeigen (Tabelle XIX).

Tabelle XVIII.

Injektion von mütterlichem Meerschweinchenserum¹⁾ bei trächtigen Meerschweinchen.

Prot.-No.	Geschlecht	trächtig	Gewicht g	Serum	Menge pro kg Gewicht ccm	In- jektion	Erscheinungen				Abort und Exitus später
							keine	leichte	schwere	Krämpfe u. Exitus	
202	w.	trächtig	890	Mch. mütterl. Serum 201	3,5	4,0	intrav.	—			
68	w.	„	680	dgl. 66	3,0	4,4	„	—	Sprünge Zittern, Sprünge		
62	w.	„	670	„ 51	3,5	5,2	„	—	Krämpfe, matt		Abort nach 4 ^h † nach 18 ^h
179	w.	„	910	„ 178	5,5	6,0	„	—	Zittern Tempera- tursturz auf 33,8		Junge Tiere tot geworfen n. 6 ^h † nach 20 ^h
178	w.	„	970	„ 179	6,5	6,7	„	—	Zittern, 36,9 T.		Junge Tiere tot n. 6 ^h geworfen † nach 20 ^h
479	w.	„	820	„ 477	7,0	8,7	„	—		† nach 6'	
647	w.	„	640	„ 642	8,0	12,0	„	—	Krämpfe, Seiten- lage		Abort nach 12 ^h † nach 14 ^h

Tabelle XIX.

Nicht trächtige Meerschweinchen. Injektion von mütterlichem Meerschweinchenserum.

Prot.-No.	Geschlecht	trächtig	Gewicht g	Serum	Menge ccm	pro kg Tier	In- jektion	Erscheinungen				Exit. später
								keine	leichte	schwere	Krämpfe u. Exitus	
72	w.	—	270	mütterl. Serum 63	2,0	7,4	intrav.	munter				
71	m.	—	240	dgl. 63	2,0	8,0	„	„				
12	w.	—	350	„ 9	2,0	5,7	„		leichte Sprünge			
7	w.	—	220	„ 2	2,0	9,0	„	Sträuben d. Haare				
5	w.	—	220	„ 1	2,0	9,0	„		Unruhe, Kaubewe- gungen			
180	w.	—	180	„ 178	2,0	9,0	„	munter				
478	w.	—	200	„ 477	3,0	10,5	„	„				
648	w.	—	200	„ 642	4,0	20,0	„	„				

1) Das gleiche Serum wurde in Kontrollversuchen bei nicht trächtigen Meerschweinchen ohne Schädigung ertragen.

Die intravenöse Injektion des Serums von trächtigen Tieren in größerer Menge wird von den trächtigen Meerschweinchen fast regelmäßig mit der Ausstoßung ihres Schwangerschaftsproduktes beantwortet. Die Tiere abortieren nicht nur nach der Injektion des artfremden Kaninchenserums (Tabelle XVII), sondern die Reaktion tritt mit der gleichen Regelmäßigkeit ein, wenn den trächtigen Meerschweinchen das Serum eines artgleichen trächtigen Meerschweinchens injiziert wird (Tabelle XVIII).

Diese Resultate stehen in gewisser Analogie zu den Beobachtungen von Sauerbruch und Heyde¹⁾, die bei künstlich parabiologisch gemachten trächtigen Ratten sehr häufig im Anschluß an die Geburt des einen trächtigen Tieres den Beginn der Geburtstätigkeit bei dem anderen parabiologischen Tiere sahen, selbst wenn sich dies Tier noch nicht am Ende der Tragzeit befand. Jene Giftstoffe, die in den Versuchen von Sauerbruch und Heyde durch Vermittlung der breiten künstlichen Körperkommunikation von dem einen Tiere auf das andere übergehen, dürften wir den Tieren intravenös injiziert haben. In beiden Fällen ist die Reaktion der Abort.

Die verschiedene Reaktion der trächtigen und nicht-trächtigen Meerschweinchen auf die Injektion des Serums trächtiger Tiere kann nicht eine Folge der injizierten absoluten Flüssigkeitsmengen sein. Es wurde zur Kontrolle einem trächtigen Meerschweinchen von 850 g Gewicht 10 ccm physiologische Kochsalzlösung intravenös injiziert, die einer relativen Menge von 12,0 ccm auf 1 kg Tiergewicht gleichkommt. Die Injektion wurde ohne Reaktion und ohne Abort vertragen.

Die Erhöhung der Toxizität des mütterlichen Serums für trächte Meerschweinchen ist eine spezifische Eigentümlichkeit gravider Tiere.

Die Differenz in der Wirkung des Serums gravider Tiere auf trächte und nicht trächte Meerschweinchen kann man damit erklären, daß das materne Serum im Blute trächtiger Meerschweinchen Stoffe findet, mit denen zusammen es eine

1) Sauerbruch und Heyde, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50.

tödliche Wirkung ausüben kann. Diese Stoffe würden im Blute der nicht trächtigen Meerschweinchen fehlen.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß das arteigene fötale Serum auf trächtige Meerschweinchen giftig wirkt. Diese sind anscheinend gegen fötales Serum überempfindlich.

Auch das Serum trächtiger Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) ist für trächtige Meerschweinchen giftig.

Die normale Giftigkeit heterologer Seren für nichtträchtige Meerschweinchen erfährt bei Kaninchen, Hunden und Menschen während der Schwangerschaft keine Veränderung. Erst nach der Geburt läßt sich konstant eine Erhöhung der Toxizität des Serums bis auf das Doppelte des Normalwertes beobachten.

Das Serum des Neugeborenen (Meerschweinchen, Mensch) ist bedeutend ungiftiger wie das Serum seiner Mutter.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene aus der Kgl. Universität Siena.
(Vorstand: Prof. A. Sclavo).]

Ueber die Kapsel des Milzbrandbacillus ¹⁾ ²⁾.

Von Dr. D. Ottolenghi,
Dozent und Oberassistent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1911.)

Die Kapsel, welche der Milzbrandbacillus unter gewissen Entwicklungsbedingungen zeigt, ist seit mehreren Jahren der Gegenstand lebhafter Diskussionen unter den Forschern gewesen. Zuerst als eine einfache Kuriosität betrachtet, hat sie später einen vornehmlichen Platz in allen Arbeiten eingenom-

1) Nach einer Mitteilung in der R. Accademia dei Fisiocritici in Siena (Sitzung vom 29. XII. 1910) mit Demonstration von mikroskopischen Präparaten.

2) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. Rühl (Turin).

men, die sich auf die natürliche und die künstliche Immunität gegen den Milzbrand beziehen.

Aus den zahlreichen Untersuchungen, die ausgeführt wurden, um aufzuklären, welche Bedeutung die Kapsel des Milzbrandbacillus hat, und vor allem, welche Rolle dieselbe in dem Kampf zwischen diesem Keim und dem Organismus spielt, scheint sich unter anderen Tatsachen folgendes ergeben zu haben:

1) Die Kapsel des Milzbrandbacillus weist keine besondere Struktur auf. In der Tat wurde sie von den Autoren einstimmig als aus einer homogenen Substanz gebildet beschrieben und diejenigen, die eine konzentrische Schichtung [Eisenberg¹⁾, Preisz²⁾], oder ein schwammartiges Aussehen (Prießner)³⁾ beobachtet haben, stehen nicht an, zu erklären, daß diese Befunde auf subjektive Veränderung oder auf Präparationsfehler zurückzuführen sind.

2) Der Milzbrandbacillus umgibt sich mit einer Kapsel, sowohl wenn er sich im Organismus entwickelt als auch wenn er im Blutserum kultiviert wird, und sowohl wenn dieses von milzbrandempfindlichen als auch wenn es von unempfindlichen Tieren her stammt, und sowohl, wenn dasselbe frisch angewendet wird, als wenn es durch Erwärmen inaktiviert wurde. In den Seris ist die Kapselbildung jedoch nur eine vorübergehende Erscheinung, da die Keime sich nach einiger Zeit wieder kapsellos entwickeln. Dadurch entstand die Meinung⁴⁾, welcher jedoch einige Autoren⁵⁾ nicht zustimmten, daß der Milzbrandbacillus zur Bildung der Kapsel einer besonderen Substanz bedarf, die in den Seris enthalten ist, aber von dem Keim bei der Kapselbildung ziemlich rasch verbraucht wird.

Meine Untersuchungen beziehen sich gerade auf die beiden soeben angeführten Punkte.

Bei meinen Untersuchungen über die Struktur der Kapsel habe ich besonders die Frischfärbung mit Kristallviolett und mit Safranin benutzt.

1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 49, 1909, p. 465.

2) a. a. O. p. 341.

3) a. a. O.

4) Vgl. Preisz, l. c.

5) J. Fischöder, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 51, 1909, p. 320.

Zu diesem Zwecke bediene ich mich konzentrierter alkoholischer Lösungen dieser beiden Substanzen. Ich breite dieselben auf dem Objektträger in ganz dünner Schicht aus, in derselben Weise, wie man es bei der Herstellung von Ausstrich-Blutpräparaten tut. Nachdem der ganze Alkohol verdunstet ist, lege ich auf den gefärbten Objektträger das Deckgläschen, auf welches ich eine Oese des zu untersuchenden Materials gebracht habe, natürlich derart, daß dieses mit dem Farbstoff in Berührung kommt, und schließe dann das Präparat ringsum mit Paraffin ein.

Bei der Färbung mit Kristallviolett verhält sich die Kapsel in Abhängigkeit von verschiedenen Bedingungen, die ich hier wohl nicht zu erwähnen brauche, verschieden, indem sie bald ganz farblos bleibt, bald nur an der Peripherie eine blasse violette Farbe annimmt, während die Bacillen entweder nur in ihrem Innern einige violette Körnchen zeigen, oder eine gleichmäßige, dunkelviolette Farbe annehmen. Nach diesem Verfahren, welches vor allem den Vorteil einer raschen Ausführung darbietet, kann man somit nur die Existenz, die Größe und das allgemeine äußere Aussehen der Kapsel erkennen, welche auf dem gleichmäßig gefärbten Grunde des Präparates deutlich hervortritt.

Das Safranin liefert hingegen feinere und interessantere Befunde. Wenn man diesen Farbstoff anwendet, so ist der Bacillus unmittelbar nach der Herstellung des Präparates durch die Kapsel hindurch gar nicht oder nur kaum sichtbar: erst nach einiger Zeit erscheint er bald gleichmäßig, bald ungleichmäßig gelblich braun oder rot gefärbt, und dann sieht man ziemlich deutlich jenes innere Retikulum, welches ich bereits Gelegenheit hatte, an anderer Stelle zu beschreiben¹⁾. Zuweilen erscheint der Bacillenfaden wie von einer sehr dünnen, gelblich-braun gefärbten Substanzschicht umgeben, welche die verschiedenen Segmente des Fadens miteinander vereinigt zu halten scheint.

Was die Kapsel anbelangt, so färbt sich dieselbe mehr oder minder intensiv gelb und zeigt eine ganz deutliche dichte Querstreifung. Bei sorgfältiger Untersuchung unter geeigneter Vergrößerung und guter Beleuchtung sieht man, daß diese Streifung auf zahlreiche schmale, bald schwache, bald stärkere Trabekeln zurückzuführen ist, die durch die ganze Dicke der Kapsel bis zu ihrem Umkreis verlaufen; dieser ist

1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 39, 1904, p. 546.

bald ganz deutlich sichtbar, bald so undeutlich, daß die Bälkchen frei zu enden scheinen. Diese Bälkchen verlaufen übrigens nicht senkrecht zur Längsachse des Bacillus, sondern schräg und strahlenförmig, so daß sie etwas an die Stacheln der Kastanienhülle erinnern; sie besetzen auch die Enden der Kapsel, dort, wo diese die Pole des Bacillenfadens umgibt. Wenn man das Mikroskop so justiert, daß der äußere Umfang der Kapsel scharf und deutlich erscheint, so beobachtet man in demselben Linien, die sich kreuzen und eine Reihe von Polygonen bilden, deren Seiten offenbar durch den optischen Durchschnitt der Trabekeln gebildet werden. Diese sind also nicht voneinander unabhängig, sondern anastomosieren miteinander und teilen somit die Kapselsubstanz in eine Reihe von Polyedern, die seitlich von den Trabekeln begrenzt werden und deren Basis im Umfang der Kapsel liegt. Dies kann jedoch bei der Kleinheit des Objektes nicht als eine sichergestellte Tatsache gelten: das Netzwerk, welches man in dem äußeren Umfang der Kapsel beobachtet, könnte ja auch darauf zurückzuführen sein, daß die Trabekeln infolge ihres schrägen Verlaufes, im Profil gesehen, wie sich kreuzende Linien erscheinen, obwohl die Trabekeln in Wirklichkeit unabhängig voneinander sind. Ich muß jedoch gestehen, daß ich aus den zahlreichen mikroskopischen Untersuchungen in dieser Richtung den Eindruck gewonnen habe, als ob es sich wirklich um ein System von miteinander anastomosierenden Trabekeln handle.

Bemerkenswert ist, wie dem auch sei, die Tatsache, daß ich eine solche Struktur der Kapsel bei an Milzbrand gestorbenen Tieren (Meerschweinchen, Kaninchen) und bei allen von mir untersuchten Seris [Ochsen-, Pferde-, Esel-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und Hühnerserum ¹⁾], und zwar nicht nur in der mit Safranin gefärbten, sondern auch in den Frischpräparaten ohne Zusatz irgendwelcher Substanz beobachtet habe; in der letzteren kann man jedoch nur die Existenz der Streifung, besonders bei den voluminöseren Kapseln erkennen, aber keine weiteren feineren Details.

1) Dieselbe Struktur beobachtete man auch bei den äußerst spärlichen Kapseln des in durch Erwärmen auf 60° C sterilisierter Milch kultivierten Milzbrandbacillus.

Nicht alle Kapseln zeigen eine deutliche Streifung; einige — ihre Zahl ist jedoch im Vergleich zu derjenigen der übrigen gering — zeigen nur Spuren von einer Streifung oder erscheinen homogen oder leicht granulös. Auch bei den soeben aus den Sporen entstandenen und zu Fäden von 1—2 Segmenten vereinigten Bacillen beobachtet man Kapseln mit wenig deutlichen Grenzen und ziemlich undeutlicher Streifung, während diese letztere bei den etwas mehr entwickelten Bacillen (Fäden von 3—5 Bacillen, die an einem Ende noch die leere Spore zeigen) viel deutlicher hervortritt.

Bis jetzt ist das Safranin der einzige Farbstoff, der mir bei solchen Untersuchungen gute Dienste geleistet hat. Was die Fixierung anbelangt, so hat sich bei den wenigen ausgeführten Versuchen der Sublimatalkohol, wenn ich ihn auf die noch feuchten Ausstrichpräparate aus Serumkulturen einwirken ließ, als ziemlich geeignet erwiesen; er hat jedoch den Uebelstand, daß er eine starke Zusammenschrumpfung der Kapsel bewirkt.

Ich habe bereits die Gründe erwähnt, aus welchen einige Autoren annehmen, daß der Milzbrandbacillus den Seris eine besondere, für die Kapselbildung notwendige Substanz entnimmt.

Wenn diese Ansicht der Wirklichkeit entspricht, so muß die genannte Substanz in den Seris in geringer Menge vorhanden sein, denn die Kapselbildung hört bei den Kulturen in solchen Nährsubstraten nach ziemlich kurzer Zeit auf, während diese Substanz im Organismus, wenigstens in demjenigen der milzbrandempfindlichen Tiere, in großer Menge vorhanden sein muß, oder man müßte denn, wie es bereits geschehen ist, zur Erklärung der Tatsache, daß bei solchen Tieren während mehrerer Tage und bis zum Tode eine äußerst große Anzahl gekapselter Bacillen vorhanden ist, andere Hypothesen aufstellen. Andererseits muß man zugeben, daß diese selbe Substanz durch andere Bakterien zerstört werden kann. Bail¹⁾ hat in der Tat beobachtet, daß das Kaninchenserum, in welchem der Typhusbacillus oder der Choleravibrio oder

1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt. Orig., Bd. 46, 1908, p. 488.

der *Staphylococcus* kultiviert worden ist, sich nicht mehr zur Kapselbildung eignet, und ich selbst konnte beobachten, daß in zufälligerweise verunreinigten Serisproben die Milzbrandbacillenkapseln äußerst spärlich waren oder fehlten, während sie in anderen nichtverunreinigten Proben derselben Sera zahlreich nachweisbar waren. Es ist schließlich zu erwähnen, daß, besonders nach den mikrochemischen Untersuchungen von Heim¹⁾ und nach den neueren Beobachtungen von Preisz²⁾, die Kapsel des Milzbrandbacillus eine Substanz enthält, die ähnliche Eigenschaften wie die Mucine besitzt, die sich, wie bekannt, durch ihren hohen Gehalt an Kohlehydraten und dadurch auszeichnen, daß sie bei der Hydrolyse Glykosamin bilden.

Alle diese Tatsachen schienen mir die Annahme nahe zu legen, daß der besondere, zusammen mit den Proteinstoffen der Sera oder der organischen Säfte zur Bildung der Kapseln der Milzbrandbacillen notwendige Stoff ein Kohlehydrat, und zwar wahrscheinlich Glykogen oder Abbauprodukte desselben sein müsse.

Um die Richtigkeit dieser Hypothese zu prüfen, habe ich den Milzbrandbacillus in Ochsen Serum kultiviert, welches ich, auch um mir seine Sterilität zu sichern, 1 Stunde auf 60° C erwärmt hatte; als nach mehrtägigem Verweilen der Kultur im Thermostaten die Bacillen keine Kapseln mehr zeigten, teilte ich die Kulturen in mehrere Portionen ein, von denen ich eine als Kontrolle benutzte, während ich den übrigen 1 Proz. Glykogen oder Maltose oder Glykose zusetzte; zu welchem Zweck ich von diesen Stoffen zuerst 10-proz. Lösungen in destilliertem Wasser herstellte und im Kochschen Topf sterilisierte.

Das Resultat war folgendes: im Serum mit Zusatz von Glykogen zeigten nach 24—36-stündigem Verweilen der Kultur im Thermostaten zahlreiche Bacillen eine gut entwickelte Kapsel mit typischer Struktur; im Maltose- und Glykoseserum waren nach 18 Stunden zahlreiche typische Kapseln sichtbar, von denen ein Teil jedoch von einer Schicht von anscheinend

1) Münchner med. Wochenschr., 1910, No. 10.

2) a. a. O.

amorpher Substanz umgeben war, welche durch Safranin gelblichrot gefärbt wurde und im Laufe der darauffolgenden Stunden etwas an Volumen zunahm und fast jede Kapsel umgab.

Nach 36—38 Stunden waren in den Maltose- und Glykosekulturen die typischen Kapseln sehr selten geworden und die große Mehrzahl der Bacillen war nur noch von der Schicht von amorpher Substanz umgeben; es waren jedoch auch Uebergangsformen nachweisbar, bei welchen die Kapsel direkt in diese Substanz überzugehen schien.

Aehnliche Erscheinungen beobachtete ich auch bei den Kulturen mit Zusatz von Glykogen; hier treten sie jedoch später, nach 4 bis 5 Tagen, ein.

Ich wiederholte den Versuch mit anderen Ochsen- und mit Seris anderer Tiere und erhielt stets dieselben Resultate. Bei einigen Seris — z. B. auf 60° erwärmtem Pferdeserum — erfolgte die Neubildung der Kapseln rascher als beim Ochsen- und Pferdeserum, ebenso wie die oben erwähnte homogene Substanz früher auftrat, welche, obwohl sie rings um die Bacillen eine Art Kapsel bildet, jedoch ihrer Struktur und ihrem Verhalten gegen Safranin nach nicht mit der gewöhnlichen Kapsel der Milzbrandbacillen verwechselt werden kann¹⁾.

Es sei ferner erwähnt, daß bei Bouillonkulturen auf den Zusatz von Glykogen oder Glykose keine Entstehung von Kapseln erfolgt; diese Beobachtung liefert einen weiteren Beweis dafür, daß zur Kapselbildung auch besondere Proteine notwendig sind, welche im Blute und in den organischen Säften vorhanden sind, während sie in den gewöhnlichen Nährsubstraten fehlen.

Wenn wir nun für einen Augenblick von der Frage nach der homogenen Substanz absehen, die rings um den in Serum mit Zusatz gewisser Kohlehydrate gezüchteten Milzbrandbacillus

1) Was ich hier und im folgenden über die Bildung der homogenen Substanz und über die Eigenschaften derselben sage, bezieht sich nur auf die Kulturen in auf 60° C erwärmten Seris. In den nicht erwärmten Seris verhält sich die Sache anders.

zu einer gewissen Zeit auftritt — eine sukzessive und vielleicht auch sekundäre Erscheinung — so können wir behaupten, daß durch Zusatz von Glykogen, Maltose oder Glykose in den Seris die zur Kapselbildung beim Milzbrandbacillus notwendigen Bedingungen wieder hergestellt werden.

Und da wenigstens bis jetzt die Annahme begründet erscheint, daß ein wichtiger Bestandteil der Kapsel ein Schleimstoff ist, können wir logischerweise schließen, daß die Kapselbildung selbst direkt auf Kosten von in den Seris oder in den Körpersäften vorhandenen Proteinstoffen und Kohlehydraten stattfindet, und daß diese Kohlehydrate im Glykogen oder den Abbauprodukten, unter denen Glykose in erster Linie in Frage kommt, zu suchen sind. Eine präzisere Behauptung in bezug auf die Art des Kohlehydrates, welches normalerweise an der Kapselerzeugung teilnimmt, würde heute verfrüht sein, und zwar nicht nur wegen unserer unvollständigen Kenntnisse über die chemische Zusammensetzung der Schleimstoffe, sondern auch aus weiteren Gründen.

In erster Linie ist es noch zweifelhaft, ob das Blut und die übrigen Gewebe, mit Ausnahme des Muskelgewebes, Glykogen oder die ersten Abbauprodukte desselben (Dextrin und Maltose) enthalten. Mehrere Autoren neigen zu der Annahme, daß die genannten Gewebe nur Glykose enthalten, weil die Umwandlung des Glykogens bis zur Glykose ganz in der Leber stattfindet. Es ist aber andererseits nicht unmöglich, daß während der Milzbrandinfektion, welche, wie Roger¹⁾ nachgewiesen hat, mit schweren Störungen der Zuckerbildung verläuft, so daß zu einer bestimmten Zeit die Leber kein Glykogen mehr enthält, infolge der veränderten Leberfunktion ein Uebergang von Glykogen, Dextrin oder Maltose oder aller dieser Stoffe zugleich in das Blut stattfindet.

Ich habe ferner beobachtet, daß man die Bedingungen für die Kapselbildung beim Milzbrandbacillus in den erschöpften Seris auch durch Zusatz anderer Kohlehydrate, wie Saccharose und Lävulose, wieder herstellen kann, während mir dies mit Milchzucker bis jetzt nicht gelungen ist.

1) C. R. Acad. Sc., T. 117, 1893, p. 448.

Um also festzustellen, welches oder welche Kohlehydrate es sind, die der Milzbrandbacillus braucht, um sich im Organismus und in den Seris eine Kapsel zu fabrizieren, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Was die Hülle aus homogener Substanz anbelangt, mit der sich, wie wir sahen, der in Seris mit Zusatz von Kohlehydraten gezüchtete Milzbrandbacillus umgibt, so verdienen zwei interessante Erscheinungen erwähnt zu werden.

Die erste besteht darin, daß auch in normalen Seris, d. h. Seris ohne Beimengungen, so z. B. im Pferdeserum, solche Hüllen, wenn auch sehr selten, auftreten; dies beweist, daß solche Gebilde keinen wesentlichen Unterschied zwischen dem frischen und dem erschöpften, mit Zusatz z. B. von Glykose versehenen Serum darstellen können.

Die zweite Erscheinung ist folgende: wenn man den Kulturen von Milzbrandbacillen in den Seris, nachdem die Kapseln bereits verschwunden sind, etwas Saccharose, oder noch besser etwas Lävulose zusetzt, so bilden sich die Kapseln wieder und sind auch noch nach mehrtägigem Verweilen im Thermostaten, im Gegensatz zu dem, was besonders bei Zusatz von Glykose geschieht, durchaus normal und frei von der erwähnten Hülle aus homogener Substanz. Man bedenke nun, daß die Lävulose unter den bisher untersuchten Kohlehydraten eines derjenigen ist, die der Milzbrandbacillus am schwersten vergärt¹⁾; könnte es somit nicht sein, daß die Entstehung der homogenen Hülle mit der Gärwirkung zusammenhinge, die der Bacillus auf die Kohlehydrate entfaltet, und daß infolgedessen die echten Kapseln nur dann entständen, wenn die Gärungsprodukte — was im Organismus leicht geschehen kann — neutralisiert oder beseitigt würden, oder wenn der Milzbrandbacillus zwar imstande wäre, für Kapselbildung das Kohlehydrat zu assimilieren, aber nicht oder nur in ganz geringem Grade imstande wäre, dasselbe zu zersetzen, wie es, nach Rogers Behauptung, bei milzbrandkranken Tieren für die Glykose und in den Seris für die Lävulose wenigstens während einer gewissen Zeit der Fall sein soll?

1) Vgl. Napias, Ann. Inst. Past., 1900, p. 232.

Es ist auch möglich, daß zur Kapselbildung gewisse besondere quantitative Verhältnisse zwischen den Proteinstoffen und den Kohlehydraten erforderlich sind und daß, wenn dieselben fehlen, dieser Prozeß sich in mehr oder minder hohem Grade ändert, und daß somit die Tatsache, daß ich bei den Kulturen in Serum mit Zusatz gewisser Kohlehydrate neben der Entstehung der eigentlichen Kapseln auch das Auftreten anderer Hüllen beobachtet habe, auf die von mir bis jetzt angewendete Konzentration der Kohlehydrate zurückzuführen ist.

Um diese und weitere Fragen zu lösen und auch wegen des Interesses, das die erwähnten Tatsachen für die allgemeine Biologie des Milzbrandbacillus haben, sollen die vorliegenden Untersuchungen vervollständigt und ausgedehnt werden. Ebenso wird es zweckmäßig sein, ähnliche Versuche mit anderen Bakterien anzustellen, welche unter gewissen Lebensbedingungen sich mit einer Kapsel versehen. Dies wäre besonders nach den neueren Beobachtungen von Fürst¹⁾ über die zur Gruppe der sogenannten gekapselten Bakterien gehörenden Mikroorganismen angezeigt. Dieser Autor hat beobachtet, daß diese Keime, wenn sie in hypotonischen Lösungen von Zucker in über 65° erwärmtem Serum gezüchtet werden, sich mit einer Hülle von gelatinösem Aussehen umgeben, welche, soweit aus den der Arbeit beiliegenden Abbildungen zu ersehen ist, derjenigen sehr ähnlich ist, die ich rings um den im Serum mit Zusatz z. B. von Glukose kultivierten Milzbrandbacillus beobachtet habe.

Fürst bemerkt, daß jene Hülle sich in Gegenwart von durch Säuren ausfällbaren Proteinstoffen bildet und daß sie aus Eiweiß bestehen muß, weil sie sich bei der Trypsinverdauung leicht löst, und gibt ferner an, daß sie sich wahrscheinlich durch Schichtung eines Albumins bildet, welches sich auf den Bakterien niederschlägt. Wenn auch für den Milzbrandbacillus etwas ähnliches nachgewiesen würde, so würde diese Beobachtung eine Bestätigung der von mir aufgestellten Hypothese liefern, daß die Entstehung einer

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56, 1910, p. 97.

homogenen Substanz, die diesen Keim umgibt, mit der Gärwirkung zusammenhängt, welche derselbe auf die Kohlehydrate ausübt und welche bekanntlich besonders durch die Erzeugung von Säuren charakterisiert ist.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über einige Bedingungen der Kapselbildung des Milzbrandbacillus.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Abhandlung von Traube: Die Resonanztheorie, eine physikalische Theorie der Immunitäterscheinungen.

Von **Karl Landsteiner.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1911.)

Zu den folgenden Bemerkungen bin ich dadurch veranlaßt, daß Traube in seiner genannten¹⁾ und in einer früheren Abhandlung²⁾ Meinungen äußert, die den von mir wiederholt vorgebrachten Ansichten in manchen Punkten nahe verwandt sind, diesen Umstand in seiner Arbeit aber nicht an den entsprechenden Stellen erwähnt³⁾. Es kommt mir hierbei in erster Linie darauf an, festzustellen, daß ich vor Traube im Gegensatz zu der herrschenden Hypothese die spezifischen Beziehungen

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 246.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 396.

3) Traube führt an, daß die Ansichten von Billitzer (Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 51, p. 140, 158) den seinen nahe stehen, aber es ist ihm offenbar entgangen, daß Billitzer (s. den früheren Abdruck dieser Arbeit, Sitzungsber. d. Königl. Akademie d. Wiss. in Wien, mathem.-naturw. Kl., Abt. IIa, Bd. 113, Okt. 1904; vgl. Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 51, 1905, p. 741) von mir vorher über die Spezifität der Antikörper gemachte Äußerungen kennt und ausdrücklich akzeptiert.

der Immunkörper auf eine Abstimmung quantitativ variabler Faktoren — nach meiner Vermutung¹⁾ elektrochemischer Affinitäten — zurückzuführen suchte. Daraus ergaben sich eine Anzahl mit den Tatsachen der Immunchemie übereinstimmender Folgerungen, von denen ich hier die folgenden anführe:

1) Die Reaktionsmöglichkeit eines Antikörpers mit zahlreichen Gegenkörpern, unter denen die Reaktion mit dem homologen Antigen nur einen ausgezeichneten Fall darstellt und die Ueberflüssigkeit der Supposition besonderer chemischer Strukturgruppen für jede einzelne der zahlreichen Reaktionen eines Immunstoffes, z. B. eines Agglutinins mit vielen Zellarten.

2) Das Vorhandensein eines Bindungsvermögens für die verschiedensten Kolloide in den Geweben normaler, nicht immunisierter Tiere an Stelle der Annahme besonderer Rezeptoren in jedem einzelnen Falle.

3) Das Bestehen eines Gleichgewichtes zwischen den kolloiden Bestandteilen eines und desselben Tierkörpers und die, wie ich annahm, zur Neubildung von Immunstoffen führende Störung dieses Zustandes durch eingebrachte fremdartige Kolloide.

4) Die Existenz einer Reihe von Antikörpern mit stufenweise zunehmender Spezifität.

5) Die Verwandtschaft der Immunreaktionen mit unspezifischen Adsorptionsvorgängen.

Um den erstrebten Zweck zu erreichen, wird es genügen, eine Anzahl von Traube und von mir ausgesprochener Sätze gegenüberzustellen.

Traube (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 268): Nun wissen wir auch, was vor sich geht und vor sich gehen muß, wenn in das Blut eines lebenden Tieres ein fremder Stoff eingespritzt wird, etwa fremdes Eiweiß, ein fremdes Blutkörperchen, ein Krankheitsstoff. Mag die Menge auch noch so klein sein, dort, wohin der Störenfried gelangt, muß eine Aenderung des Gleichgewichtes eintreten; kaleidoskopartig werden sich die Teilchen verschieben. Traube (Biochem. Zeitschr., 1908, p. 397): Ist aber

1) In Uebereinstimmung mit der Kolloidtheorie von Billitzer.

etwa unter dem Einfluß eines Toxins ein solcher Rezeptor gebildet, der natürlich auch ein Spaltungsprodukt des Eiweißes sein kann, so wird nach den Lehren der Gleichgewichtslehre und der Massenwirkung die Bildung dieses einen Rezeptors die Bildung weiterer Rezeptoren gleicher Art zur Folge haben. Das Weigertsche Gesetz ergibt sich als eine Folgerung der Mechanochemie

Landsteiner und Jagić (Münch. med. Wochenschr., 1903, p. 12): Man hat alsdann nur nötig, statt der oben erwähnten Ausschaltung eines Teiles des Protoplasmas, der nach Ehrlich als eine Seitenkette einer komplizierten Verbindung anschaulich gemacht wurde, die Ausschaltung gewisser Teile eines beweglichen, vorher in Gleichgewicht befindlichen Systems reagierender Stoffe anzunehmen, in dem Gegenprozesse ablaufen. Diese Form der Darstellung bietet den Vorteil, ohne weitere Annahme verständlich zu machen, daß auf gewisse Störungen des normalen Zustandes (Immunisierungs- und Regenerationsreize) überhaupt solche Reaktionen folgen, die die Störung auszugleichen bestrebt sind. Denn es ist eine Eigenschaft im Gleichgewichte befindlicher chemischer Systeme usw.

Landsteiner und Reich (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1907, p. 231): Insofern nun die Prozesse, die durch die Immunisierung angeregt werden und zur Entstehung der Antikörper führen, umkehrbar sind erscheint es nicht unbegreiflich, daß von jenen Stoffen, die überhaupt entstehen können, unter dem das Gleichgewicht störenden Einfluß der Antigene gerade die sich bilden, die die Antigene maximal neutralisieren. Anmerkung: Es ist möglicherweise eine ähnliche Betrachtung nicht nur für den hier besprochenen Fall von Anpassung — den Immunisierungsprozeß — sondern auch für andere Anpassungen am Platz, die z. B. bei Aenderung der Temperatur, des Druckes erfolgen usw.

Traube (Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 403): Kein teleologisches Moment ist in meiner Hypothese enthalten; nicht zahllose, chemisch verschiedene Specifica, die bei jeder Tierspecies, beispielsweise bei jeder Schlange, verschieden sind, sind vorhanden, sondern es handelt sich um verschiedene Kombinationen derselben Bausteine.

Landsteiner und Reich (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1907, p. 231, Anmerkung): Die entgegengesetzte Hypothese, daß alle möglichen spezifischen Stoffe in merklichen Mengen im normalen Organismus schon ausgebildet seien, erscheint uns, abgesehen von der fehlenden experimentellen Begründung, vielmehr ungleich komplizierter und etwa einer Theorie des Farbensinnes vergleichbar, die für jede mögliche Nuance ein besonderes empfindendes Element im Sinnesorgan verlangen würde. Man kann sich hingegen unschwer vorstellen, daß aus einer nicht großen Zahl von Elementen, die im Körper vorhanden sind, durch synthetische Prozesse sehr zahlreiche Substanzen entstehen.

Landsteiner und Jagić (Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 18): die spezifische Immunisierung im Prinzip als Summe einer Anzahl von nicht-spezifischen Einzelreaktionen anzusehen sei. Welches auch die

Ansicht über den Immunisierungsprozeß sei, so ist es doch natürlich, daß bei dem komplizierten Aufbau des Organismus nach Zellen und Zellstoffen beim Einbringen fremder, kompliziert gebauter Stoffe zahlreiche Reaktionen eintreten, und es ist ebenso begreiflich, daß die Summe aller dieser Reaktionen nicht leicht für zwei verschiedene eingebrachte Stoffe gleich sein kann (vgl. Landsteiner und Jagič, Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 46).

Traube (Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 1911, p. 262): . . . so sollten wir uns die Frage vorlegen, ob hier chemische Anschauungen als ausreichend angesehen werden können. Wie viel mehr hat aber diese Frage in der Toxinlehre Berechtigung, wenn wir erfahren, daß es in bezug auf die Spezifität der Wirkungen gleichgültig ist, ob ein Globulin, ein Kasein- oder sonst irgendwelches Kolloidderivat des betreffenden Organismus vorliegt!

Landsteiner (Oppenheimers Handbuch d. Biochem., Bd. 2, 1909, p. 442): Die chemische Arteigenheit tritt z. B. darin zutage, daß das Serum und die verschiedenen Zellen einer Tierart gegeneinander äquilibriert sind, daß aber ein Serum mit den allermeisten fremdartigen Blutkörperchen in verschiedener Weise, zum Teil unter Agglutination energisch reagiert. Nach der Ehrlichschen Theorie wäre dies der Fall, weil jedes Serum haptophore Gruppen, d. h. besondere spezifische Affinitäten für das Blut aller anderen Tierarten besäße, nach der hier beschriebenen Auffassung, weil nur unter ganz bestimmten Bedingungen, wie sie innerhalb . . . einer Tierart realisiert sind, die amphoteren Kolloidsysteme des Serums und der Zellen im Gleichgewicht stehen, während sie bei verschiedenen Species im allgemeinen . . . unter Ausgleich der elektrochemischen Affinitäten regieren. Auch die Tatsache, daß die verschiedenen Eiweißstoffe einer Tierspecies bei der Präzipitinreaktion sich als verwandt erweisen, ist leichter auf die hier angedeutete Weise als durch die Annahme ganz bestimmter chemischer Strukturverhältnisse zu verstehen, wenn man bedenkt, daß die verschiedenen Eiweißkörper eines Tieres nach der Beschaffenheit ihrer Spaltprodukte einander viel ferner stehen als analoge Eiweißkörper verschiedener Tierarten.

Traube (Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 399): Der Uebergang von diesem Tunkpapier zum Blute ist nicht so gewaltsam, wie derselbe im ersten Augenblick erscheinen könnte. Auch das normale Blut ist ein mehrphasiges System Blutkörperchen haben die Fähigkeit, unter bestimmten Umständen zu agglutinieren, Kolloide die Fähigkeit, sich zusammenzuballen und ausflocken zu lassen. Beides geschieht nicht im normalen Blute; die Annahme liegt nahe genug, daß hier Kräfte vorhanden sind, welche einem Zusammentritt der Kolloidteilchen zu größeren Komplexen, einer Vereinigung der Zellen zu Zellkomplexen sich ebenso widersetzen

Traube (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 267): . . . offenbar jene Oberflächenkräfte abstoßend wirken und damit die Berührung und die Möglichkeit von Flockungen und Agglutinationen ausschließen. Wird

beispielsweise angenommen, die gleichartigen Teilchen der Stoffe derselben Art hätten gleichartige elektrische Ladungen auf ihrer Oberfläche, so ergibt sich ja die Abstoßung von selbst;, p. 268, Anmerkung: Raehlmann (vgl. Physik. Zeitschr., l. c.) weist besonders hin auf die Gleichheit der Abstände der Teilchen und auf die daraus zu folgenden abstoßenden elektro-statischen Kräfte.

Landsteiner und v. Eisler (Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905, p. 309; vgl. die analogen Stellen bei Landsteiner und Jagič, Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27). Später haben Bechhold und Neisser und Friedemann diesen Gedanken näher ausgeführt und die Kenntnis der erwähnten Beziehungen erweitert. Diese Autoren stellten namentlich fest, Es ist also offenbar die Zusammenballung der schon mit Agglutinin verbundenen Bakterien unter dem Einfluß von Salzen, wie Bordet annahm, im Grunde dasselbe wie die Ausflockung einer Suspension und beruht auf der Beeinflussung der die Partikel schwebend erhaltenden elektrischen Ladungen durch den Salzzusatz; ebenda, Anmerkung: Die Existenz abstoßender Kräfte läßt sich bei mikroskopischer Betrachtung von Blutaufschwemmungen unmittelbar aus der auffallend gleichmäßigen Verteilung entnehmen, die die nicht agglutinierten Blutkörperchen zeigen. Demgemäß verrät sich ein geringer Grad von Agglutination durch Unregelmäßigkeiten in der Verteilung der Blutkörperchen¹⁾.

Landsteiner und Jagič (Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27, Anmerkung): Auch die Aufhebung der Molekularbewegung von Mikroben durch Serumwirkung (Halban) hat ihre Parallele in der Beeinflussung der Molekularbewegung suspendierter Partikel durch zugefügte Elektrolyte und Kolloide (Schulze).

Traube (Biol. Zeitschr., Bd. 10, 1908, p. 401): Die Hypothese, welche wir hier einführen, besteht somit in der Annahme, daß Stoffe von geringem Haftdrucke und fremde Phasen, welche in Wasser suspendiert sind, unter gewöhnlichen Umständen auf Grund der an der Oberfläche wirksamen Kräfte nicht zur Berührung gebracht werden können, daß dies aber möglich ist unter dem Einfluß von Katalysatoren (fremden Blutkörperchen, Toxinen usw.), welche nun ihrerseits auch in spezifischer Weise befähigt werden, mit den gebildeten Komplexen in Reaktion zu treten. Die Annahme solcher abgestimmter Moleküle und Phasen . . . (ebenda, p. 402). So zeigt sich beispielsweise, daß die Fällung elektropositiver durch elektronegative Kolloide oft auf enge mittlere Konzentrationsgrenzen beschränkt ist. Diese Tatsachen — diese Spezifitäten der Konzentrationen — sind bisher nicht genügend erklärt; wie mir scheint, sprechen aber auch diese Erscheinungen dafür, daß nur bei ganz bestimmter Verteilung der Oberflächenkräfte die Kolloidteilchen zusammentreten können, daß eine gegenseitige Adsorption oder Verbindung bezw. Ausfällung erfolgen kann.

1) Vgl. Landsteiner, in Oppenheimers Handbuch d. Biochemie, Bd. 2, p. 431.

Traube (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 9, 1911, p. 271) ... die Kräfte, welche hier wirken, sind Kohäsionskräfte bzw. elektrische Kräfte. Wie eine Stimmgabel durch Resonanz auf eine andere abgestimmt ist ... so sehen wir hier aufeinander abgestimmte Moleküle und Molekularkomplexe (ebenda, p. 272). Ein Antigen ist ein Ferment, welches abgestimmte Moleküle hervorbringt — Molekularkomplexe —, deren Energiequantenzahl in einem solchen Verhältnisse steht zu der Energiequantenzahl auf der Oberfläche der Antigenteilchen, daß namentlich bei geeigneten Mengenverhältnissen (Optimis) der Mischung Präzipitationen, Agglutinationen etc. in analoger Weise erfolgen, wie bei der Mischung entgegengesetzt geladener Kolloide.

Landsteiner und Jagić (*Münch. med. Wochenschr.*, 1904, No. 27): Zur Erzielung von Hämagglutination erwiesen sich sowohl saure als basische anorganische Kolloide geeignet ... Es ist daran zu denken, daß die Abstufungen der sauren und basischen Eigenschaften für die Spezifität der Beziehungen zwischen den Immunkörpern und die Verbindungen der Eiweißkörper untereinander in ähnlicher Weise in Betracht kommen, wie für die elektiven oder spezifischen Färbungen der tierischen Gewebe. Ebenda: Je größer die Kolloidteilchen werden, um so weniger wird die Zusammensetzung ihrer Verbindungen einfachen Verhältnissen entsprechen, die Erscheinungen werden sich den Effekten der sogenannten Oberflächenwirkungen nähern und die Zusammensetzung der Verbindungen auch von der Verteilung der entgegengesetzten elektrischen Ladungen auf die reagierenden Partikel abhängig sein.

Landsteiner und v. Eisler (*Centralbl. f. Bakteriol.*, Bd. 39, 1905, p. 310): Die gegenseitige Ausfällung kolloider Stoffe ist an einfachen Substanzen in letzter Zeit namentlich von Biltz studiert und auf die Neutralisation entgegengesetzt elektrisch geladener Partikel zurückgeführt worden. Diese Vorstellung wird, wie wir ausführten, für die amphoteren organischen Kolloide wahrscheinlich einer Ergänzung bedürfen, die darin besteht, daß die gegenseitige Beeinflussung des elektrischen Zustandes dieser Körper im Momente ihres Zusammentreffens in Betracht zu ziehen ist. Nach geschehener Neutralisation, die wahrscheinlich als eine Art von Salzbildung anzusehen ist, können die neugebildeten Kolloidkomplexe entweder sofort ausfallen oder leichter der Ausflockung durch Elektrolyte unterliegen als vor der Verbindung der Komponenten.

Landsteiner und Reich (*Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 58, 1907, p. 229): Da auch beim Immunserum ein Partialagglutinin mit zahlreichen Blutarten reagiert, wenngleich die Spezifität in diesem Falle eine viel hochgradigere ist als beim Normalserum, so geht es offenbar auch hier nicht an, jedem Agglutinin Angriffspunkte (Rezeptoren) von ganz besonderer Beschaffenheit zuzuordnen, sondern man hat wieder mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die Affinitäten der Immunagglutinine je nach der Beschaffenheit der mit ihnen reagierenden Stoffe quantitativ abgestuft sind. Die Verwandt-

schaften sehr geringen Grades werden der Beobachtung natürlich in der Regel entgehen. (Man könnte die Spezifität durch eine Kurve veranschaulichen, die bei den Immunagglutininen ein sehr ausgesprochenes Maximum hat.)

Landsteiner (Oppenheimers Handb. d. Bioch., Bd. 2, 1909, p. 443): Die Ansicht von Michaelis, daß die Spezifität der Immunreaktionen auf chemischen, wahrscheinlich stereochemischen Affinitäten beruhen müsse . . . scheint eine vorläufig nicht notwendige Komplikation zu bedeuten, da doch die Möglichkeit besteht, daß amphotere Kolloide nur unter gewissen Bedingungen einander ausfällen, z. B. bei einer besonderen Abstimmung der salzbildenden Gruppen, die eine völlige Entladung der sich bildenden Teilchen der Kolloidverbindung zuläßt. Kolloidreaktionen, die eine gewisse Spezifität zeigen, sind übrigens außer den eigentlichen Immunreaktionen schon bekannt, z. B. . . .').

Die angeführten Zitate lassen, um es nochmals zu wiederholen, keinen Zweifel darüber, daß ich zuerst auf die Möglichkeit (und deren Konsequenzen) hingewiesen habe, die Spezifität der Immunstoffe auf graduell abstufbare (wie ich hypothetisch annahm, elektrochemische) Kräfte zu beziehen, die derart beschaffen sind, daß die Affinität eines spezifischen Antikörpers zu einem bestimmten Antigen besonders groß ist, i. e. daß diese Stoffe quantitativ aufeinander abgestimmt sind.

Abgesehen davon bestehen allerdings zwischen Traube und mir wesentliche Differenzen in bezug auf die Art der als wirksam vorausgesetzten Kräfte, von denen ich voraussetze, daß sie von der chemischen Beschaffenheit der Substanzen (etwa in ähnlicher Weise wie die tinktoriellen Eigenschaften von Farbstoffen von ihrer chemischen Konstitution) abhängig sind, wenn auch, nach den Versuchen über die Bildung von besonderen Antikörpern gegen erhitztes Eiweiß, die Spezifität mit aller Wahrscheinlichkeit auch von physikalischen Aenderungen der Stoffe beeinflusst wird (Zustandsspezifität nach Obermayer und Pick²⁾).

1) Vgl. Landsteiner und Pauli, Elektrische Wanderung der Immunstoffe. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 18. — Landsteiner, Die Theorien der Antikörperbildung. Ref. f. d. XVI. med. Kongr. in Budapest. — Ergebnisse der wissenschaftl. Medizin. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 47.

2) Bei Traube ist die Autorschaft dieser Beobachtungen irrtümlich Schmidt zugeschrieben.

Traube meint hingegen¹⁾: Die chemische Natur der Stoffe ist eben in bezug auf die Spezifizitätserscheinungen jedweder Art völlig gleichgültig, nur der physikalische Zustand ist es, auf welchen es ankommt.

Ohne auf eine Diskussion dieser von Traube aufgestellten Hypothese eingehen zu wollen, möchte ich nur bemerken, daß für diese Annahme mir keine genügenden Argumente vorzuliegen scheinen²⁾.

1) l. c. Zeitschr. f. Immunitätsf., p. 262.

2) Es sei in dieser Beziehung an die Äußerungen von Zangger (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, p. 203) erinnert.

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

H. Apolant, Frankfurt a. M., M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag,
E. F. Bashford, London, E. v. Behring, Marburg, S. Belfanti, Mailand, A. Besredka,
Paris, J. Bordet, Brüssel, A. Breinl, Liverpool, L. Brieger, Berlin, A. Calmette, Lille,
A. Dieudonné, München, R. Doerr, Wien, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern,
Heidelberg, P. Ehrlich, Frankfurt a. M., S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin,
P. Frosch, Berlin, G. Gaffky, Berlin, M. von Gruber, München, M. Hahn, Königs-
berg i. Pr., A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen,
Kopenhagen, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Bern, W. Kruse, Bonn, K. Land-
steiner, Wien, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, F. Loeffler, Greifs-
wald, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, E. Metschnikoff, Paris,
L. Michaelis, Berlin, R. Muir, Glasgow, C. Morehead, Pavia, P. Th. Müller, Graz,
M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. Ostertag,
Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick,
Wien, P. Römer, Marburg, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien,
Cl. Schilling, Berlin, Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Berlin, V. C. Vaughan, Ann
Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Peters-
burg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Berlin.)

R. KRAUS
(Wien.)

H. SACHS
(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH
(Straßburg i. E.)

Neunter Band.

Mit 7 Figuren und 21 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1911

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA

THE UNIVERSITY OF IOWA



